



Modélisation, réalisation et caractérisation d'un capteur plasmonique à fibre optique : Effets de la rugosité, des réactions de surface et de la cinétique dans un système microfluidique

Malak Kanso

► To cite this version:

Malak Kanso. Modélisation, réalisation et caractérisation d'un capteur plasmonique à fibre optique : Effets de la rugosité, des réactions de surface et de la cinétique dans un système microfluidique. Matière Condensée [cond-mat]. Université de Nantes, 2008. Français. NNT : . tel-00296650

HAL Id: tel-00296650

<https://theses.hal.science/tel-00296650>

Submitted on 15 Jul 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ÉCOLE DOCTORALE
SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE L'INFORMATION ET DES MATÉRIAUX

Année 2008

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Modélisation, réalisation et caractérisation d'un
capteur plasmonique à fibre optique :
Effets de la rugosité, des réactions de surface et
de la cinétique dans un système microfluidique

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Physique du solide

Spécialité : Sciences des matériaux

*Présentée
et soutenue publiquement par*

Malak KANSO

le 19 juin 2008 devant le jury ci dessous

<i>Président</i>	M. CHAUVET Olivier, Professeur d'Université, Nantes
<i>Rapporteurs</i>	M. BARILLE Régis, Professeur d'Université, Angers M. ZOAETER Mohamed, Professeur d'Université, Doyen de la faculté de Génie, Liban
<i>Examineurs</i>	M. CUENOT Stéphane, Maître de Conférences, Nantes M. JONAS Alain, Professeur d'Université, Belgique M. LOUARN Guy, Maître de Conférences, Nantes

*Directeur de Thèse : Guy LOUARN, Institut des matériaux Jean Rouxel, Nantes
Co-encadrant : Stéphane CUENOT, Institut des matériaux Jean Rouxel, Nantes*

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer tout d'abord mes plus sincères remerciements à mon directeur de recherche Guy Louarn et mon Co-encadrant Stéphane Cuenot qui m'ont appuyé par leurs conseils, leurs compétences, leur patience et la confiance qu'ils m'ont accordée durant toute la période des mes études doctorales. Ceci a grandement facilité la réalisation du présent ouvrage. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail.

Je voudrais aussi exprimer mes remerciements aux professeurs, Régis Barillé, Olivier Chauvet, Alain Jonas et Mohamed Zoaeter, et qui m'ont fait l'honneur de participer au jury de cette thèse.

Merci également à mes collègues au laboratoire pour leurs précieuses opinions ainsi que pour leur aide dans ce qui concerne les travaux expérimentaux.

Qu'il me soit également permis d'adresser mes remerciements au directeur et à tout le personnel de l'Institut des Matériaux Jean-Rouxel (IMN) de l'Université de Nantes pour leur affabilité et leur sympathie.

Je présente mes remerciements au Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) pour le soutien financier.

Enfin, à mes parents et amis ainsi que mon mari dont le soutien fut indéfectible; merci du fond du cœur, ce travail vous est dédié.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 CHAPITRE I	
PLASMON DE SURFACE : DEFINITION – APPLICATIONS – CAPTEURS	
I-1 Introduction	9
I-2 Plasmons de volume et plasmons de surface	9
I-2-1 Quelques dates clés	9
I-2-2 Plasmons et théorie de Drude	10
I-2-3 Relations de dispersion des plasmons de surface.....	11
I-2-4 Relation de couplage plasmon-lumière	14
I-2-5 Plasmons de surface localisés.....	17
I-3 Exemples d'applications	17
I-4 Capteurs à résonance des plasmons de surface : principe de fonctionnement et avantage des capteurs SPR à fibre optique.....	21
I-4-1 Le capteur SPR conventionnel	21
I-4-2 Les Biocapteurs.....	22
I-4-3 SPR Versus Fluorescence	24
I-4-4 Importance de la microfluidique	24
I-5 Capteurs SPR à fibre optique : État de l'art	25
I-5-1 Sensibilité, Limite de détection et gamme de fonctionnement	26
I-5-2 « Reflection-based fiber-optic » RFO	27
I-5-3 « Transmission-based fiber-optic » TFO	29
I-5-4 Fibres polies	30
I-5-5 Fibres effilées	32
I-5-6 Fibres dites « hétéro-cœur »	33
I-5-7 Capteur FO à base de nanoparticules d'or	33
I-6 Conclusion	34
Bibliographie	36

CHAPITRE II

CAPTEUR SPR À FIBRE OPTIQUE : APPROCHE NUMÉRIQUE

II-1 Introduction.....	43
II-2 Résonance des plasmons de surface : configuration de <i>Kretschmann</i>.....	43
II-2-1 Interrogation angulaire : réflectivité et coefficients de Fresnel	43
II-2-2 Approximation de <i>Kretschmann-Raether</i>	46
II-2-3 Approximation de <i>Kurihara</i>	49
II-2-4 Interrogation spectrale : modèle de Fresnel	51
II-3 Propriétés générales des fibres optiques	52
II-3-1 Structure d'une fibre optique	52
II-3-2 Guidage de la lumière dans une fibre optique	54
II-4 Résonance des plasmons de surface dans une fibre optique (FO)	55
II-4-1 Calcul de la réflectivité dans une fibre optique.....	55
II-4-2 Calcul de la puissance transmise par une fibre.....	58
II-5 Propriétés optiques des différents milieux	61
II-5-1 Dispersion chromatique de la silice	61
II-5-2 Fonction diélectrique d'un métal noble.....	62
II-5-3 Permittivité optique du milieu diélectrique	69
II-6 Conclusion.....	71
Bibliographie	72

CHAPITRE III

RÉALISATION DES FIBRES CAPTEURS & OPTIMISATION

III-1 Introduction	77
III-2 Réalisation des fibres capteurs.....	77
III-2-1 Préparation de la fibre optique	77
III-2-2 Métallisation par évaporation thermique (effet joule).....	78
III-2-3 Description du montage expérimentale : procédure de mesure	79
III-2-4 Résultats	81
III-3 Caractérisations topologiques de la couche métallique.....	83
III-3-1 Mesure de l'épaisseur	83
III-3-2 Etat de la surface.....	84

III-4 Mesure et simulation de la rugosité	86
III-4-1 Mesure de la densité spectrale de puissance	87
III-4-2 Concept de milieu effectif	91
III-4-3 Fonction diélectrique effective : Relation de Clausius-Mossotti	92
III-4-4 Théories des milieux effectifs: application à la rugosité de la surface	94
III-5 Validation de la modèle numérique et études paramétriques	98
III-5-1 Résultats numériques	98
III-5-2 Comparaison simulation et spectres expérimentaux	99
III-5-3 Etude numérique de principaux paramètres	101
III-6 Sensibilité et Rapport signal sur bruit du capteur SPR à fibre optique... 106	
III-6-1 Sensibilité	107
III-6-2 Rapport signal sur bruit	110
III-6-3 Comparaison fibre optique et prisme.....	111
III-6-4 Capteur fibre optique avec une couche d'argent	113
III-6-5 Capteur SPR par dépôt d'une couche bimétallique (argent/or)	114
III-7 Conclusion	117
Bibliographie	119

CHAPITRE IV

ETUDE EXPERIMENTALE ET NUMERIQUE D'UN CAPTEUR SPR A FIBRE OPTIQUE DANS UNE CELLULE MICROFLUIDIQUE

IV-1 Introduction	123
IV-2 Microfluidique et dispositif expérimental.....	124
IV-2-1 Microfluidique et biotechnologie	124
IV-2-2 Dispositif expérimental.....	125
IV-2-3 Réponse expérimentale du système lors de l'injection de solutions références .	128
IV-3 Modélisation du capteur d'indice à fibre optique	130
IV-3-1 Ecoulement laminaire.....	130
IV-3-2 Fluide Newtonien et non-Newtonien	131
IV-3-3 Equations de Navier-Stokes	132
IV-3-4 Profil de vitesse entre deux plaques parallèles	133
IV-3-5 Equation de transport par diffusion et advection (convection forcée)	135
IV-3-6 Résolution par la méthode des éléments finis	136
IV-3-7 Résultats numériques et comparaisons	140

IV-4 Mesure de réactions biochimiques de type « Key-lock »	142
IV-4-1 Modèle de Langmuir	143
IV-4-2 Couplage advection/diffusion et réaction biochimique de type « Key_Lock ».....	145
IV-4-3 Implémentation du modèle complet	146
IV-4-4 Quantification de la réaction par la technique SPR	147
 IV-5 Résultats numériques – caractérisation du biocapteur	149
IV-5-1 Couplage adsorption chimique – signal SPR.....	150
IV-5-2 Etude cinétique de la réaction PKI-PrKX.....	153
IV-5-3 Etudes paramétriques	160
 II-11 Conclusion.....	161
 Bibliographie	163
 CONCLUSION.....	167
 ANNEXE.....	A-1

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'évolution très rapide des technologies engendre des contributions importantes dans divers domaines de compétences tels qu'en chimie, biochimie, biologie, environnement, matériaux, mécanique, médecine, physique et autres. Par exemple, les progrès d'instrumentation et de modélisation par ordinateur ont aidé à découvrir de nouveaux aspects de l'*ADN* permettant d'améliorer la prévention des maladies des plantes et des êtres vivants. Le développement des instruments très avancés est devenu un enjeu majeur pour répondre aux besoins et aux exigences qui sont de plus en plus difficiles : une meilleure maîtrise du temps, une réponse extrêmement rapide, des composantes miniatures, une surveillance dans des milieux difficiles d'accès, une analyse en temps réel, une exécution de plusieurs milliards d'opérations à la seconde, etc.

Dans ce même contexte, le besoin important de disposer d'instruments performants pour la détection chimique et biologique connaît aussi un essor et un développement considérable en raison de la forte demande en médecine ou pour le contrôle alimentaire, pour n'en citer que deux. Parmi le grand nombre de dispositifs de détection existants, encore appelés « capteurs », l'un d'entre eux est basé sur un phénomène physique de résonance des plasmons de surface ou *SPR* (*Surface plasmon resonance*). Ce type de capteur biochimique est particulièrement utilisé aujourd'hui car il a prouvé sa capacité à fournir une réponse rapide en temps réel, et sans l'utilisation de marqueurs. Ceci vient de la propriété singulière des plasmons de surface, de guider la lumière le long d'une interface métal/diélectrique, et ceci précisément en fonction des propriétés du diélectrique. Plus spécifiquement, ce sont des ondes de surface dont les caractéristiques sont très sensibles au milieu diélectrique qui est en contact avec la surface du métal. Une petite variation de l'indice diélectrique de ce milieu entraîne un changement des conditions dites de « résonance ». En mesurant ce changement, il est alors possible de détecter, en temps réel, la présence des espèces chimiques et/ou biochimiques au voisinage de la surface métallique et de réaliser ainsi des capteurs très sensibles, par exemple, pour des analyses quantitatives des réactions biomoléculaires [1].

De nombreux articles sur les capteurs basés sur le phénomène de la résonance des plasmons de surface *SPR* ont été publiés depuis 1983 [2]. En effet, plusieurs configurations ont été proposées pour ces capteurs. Parmi ces configurations, la plus répandue est celle proposée par *Kretschmann* et *Raether*, qui est basée sur l'utilisation d'un prisme massif [3]. Actuellement, les systèmes *SPR* basés sur cette configuration sont largement utilisés et commercialisés pour sa grande sensibilité et sa grande limite

de détection malgré la complexité du montage et le coût élevé. Il faut bien noter que l'utilisation de cette configuration est restreinte aux systèmes non-miniatures.

Avec l'évolution de l'industrie, il y a de plus en plus de demandes pour des dispositifs miniatures et automatiques surtout pour des systèmes d'analyses chimiques, biochimiques et biologiques, ce qui a généré un intérêt récent pour les fibres optiques comme nouvelle configuration de capteur *SPR*. L'originalité de cette configuration consiste à remplacer le prisme massif, usuellement utilisé, par une fibre optique préalablement traitée. L'intérêt de cette approche est issu de la rencontre de deux technologies. D'abord, elle permet de tirer les avantages des fibres optiques connus en télécommunication pour de nouvelles applications industrielles, en particulier dans le domaine de l'environnement, et de l'agroalimentaire. En effet, la conception de tels capteurs *SPR* à fibres optiques permet d'envisager des dispositifs miniatures, flexibles et relativement bon marché permettant de toucher de nombreux secteurs. D'autre part, la détection par résonance des plasmons de surface étant basée sur un effet résonant, elle n'exige pas un marquage des molécules cibles et permet de quantifier en temps réel la présence de molécules dans des milieux très confinés par l'association de cette détection avec un système microfluidique. L'utilisation de la microfluidique, tout en ayant accès aux réactions présentes sur la surface, rend cette technique particulièrement séduisante dans le domaine de la détection chimique et biochimique.

Actuellement, les capteurs à fibre optique basés sur la résonance des plasmons de surface ont prouvé leur capacité de mesure aussi bien en laboratoire de recherche que lors de tests de détection de différentes espèces chimiques et biochimiques industrielles. Néanmoins, pour espérer obtenir un capteur *SPR* à fibre optique performant et compétitif, il est aujourd'hui nécessaire d'améliorer sa sensibilité et sa limite de détection. Ces deux caractéristiques de performance dépendent principalement des configurations géométriques du capteur ainsi que de certains paramètres physiques tels que la nature des traitements de surface, les constantes diélectriques des matériaux mis en jeu, de la rugosité de la couche métallique... D'une manière générale, nous pouvons dire que le problème se résume à trouver la géométrie idéale ainsi que les paramètres clés ayant l'influence sur la réponse du capteur.

Jusqu'à présent, les études paramétriques expérimentales et les simulations numériques de réponse *SPR* semblent être deux approches particulièrement intéressantes pour ce problème. En effet, plusieurs études ont porté, avec l'aide des simulations numériques, sur l'optimisation de la performance du capteur ainsi que sur des études paramétriques. Des travaux sur le processus de réalisation des capteurs miniatures à fibre optique sont déjà réalisés [4]. L'élaboration et la caractérisation d'un capteur à fibre optique avec une couche d'argent fait l'objet de plusieurs projets de recherche. Ce type de capteur ayant une bonne sensibilité et une bonne précision nécessite une couche protectrice car l'argent s'oxyde rapidement dans les milieux aqueux. Pour cette raison, un capteur avec une couche d'argent est généralement considéré comme inapproprié dans certains domaines, surtout en biologie.

D'autres études théoriques et expérimentales ont été menées sur des capteurs *SPR* à fibre optique avec une couche d'or qui s'avère plus stable dans le temps que l'argent. La performance de ces capteurs n'est pas encore bien établie, ni prouvée. Il est toujours difficile de comparer la performance de ces capteurs car cette notion diffère suivant les travaux publiés et les caractéristiques du capteur [5-6]. À partir de ces résultats, Il était impossible de prendre en compte toutes les combinaisons possibles entre les différents paramètres et conditions (par exemple, nature de molécules à détecter, méthode d'interrogation, équipement utilisé etc...). De plus, à notre connaissance, aucune étude n'a été menée sur l'influence de la rugosité de la surface sur la réponse du capteur. Cette rugosité a été négligée dans la plupart des modèles théoriques qui traitent le phénomène de résonance des plasmons de surface dans la configuration capteur à fibre optique. Par conséquent, la surface métallisée a toujours été considérée comme infiniment lisse, loin de la configuration réelle. Jusqu'à présent, dans la littérature, aucune étude comparative complète entre la réponse expérimentale et numérique d'un même capteur *SPR* à fibre optique n'existe. En conclusion, la performance de ces capteurs est encore insuffisante pour les rendre opérationnels en industrie et compétitifs avec les dispositifs de détection classiques.

Pour toutes ces raisons, il est difficile d'estimer la sensibilité et la limite de détection d'un capteur à fibre optique avec une couche d'or dans un environnement de développement et de bien s'assurer de la fiabilité de son fonctionnement dans un environnement réel.

Notre objectif principal consiste donc à optimiser la performance d'un capteur *SPR* à fibre optique avec une couche d'or. Ce qui exige de déterminer la géométrie idéale et les conditions de fonctionnement optimales du capteur. Pour atteindre cet objectif, il sera nécessaire de développer un modèle numérique valide qui nous permet de déterminer les conditions de fonctionnement optimales du capteur en effectuant des simulations numériques en fonction de certains paramètres, issus des données expérimentales. À l'aide de ces simulations, nous pouvons ainsi gagner un temps précieux en évitant de nombreuses expériences. Afin de valider le modèle numérique dans le cas des applications expérimentales, nous avons :

1. réalisé des capteurs *SPR* à fibre optique
2. effectué des caractérisations expérimentales de la surface métallisée pour déterminer ses paramètres : épaisseur, constante diélectrique, rugosité.
3. mené une étude comparative entre les réponses numériques et expérimentales.

Finalement, l'association d'un système microfluidique au capteur *SPR* à fibre optique se rapporte à une miniaturisation et une automatisation plus avancée. Ceci permet de suivre en temps réel l'évolution de la réponse *SPR* et d'étudier les cinétiques de toutes les réactions présentes à la surface. Ainsi, l'implémentation de notre modèle numérique avec les paramètres cinétiques issus des mesures expérimentales réalistes mettent en évidence la capacité du capteur *SPR* à fibre optique pour l'étude des analyses biologiques.

L'organisation de cette thèse est la suivante :

Le Chapitre I présente un rappel sur les approches théoriques des plasmons de surface, les méthodes optiques d'excitation passant par les applications basées sur la résonance des plasmons de surface en montrant l'importance de cette méthode optique pour la réalisation de capteurs chimiques et bio-capteur. Le chapitre se terminera par l'état de l'art des capteurs à fibre optique basés sur la résonance des plasmons de surface, sujet principal de notre travail.

Le Chapitre II est consacré à développer un outil numérique permettant la modélisation d'un capteur SPR à fibre optique. Cette modélisation écrite sous le logiciel *Matlab7* consiste à prendre en compte le calcul de la réflectance de la lumière par la résolution des matrices dites de « transfert » pour un système de N couches. Pour réaliser ces calculs nous avons dû préalablement reprendre des mesures par ellipsométrie de la fonction diélectrique de l'or et les modéliser en prenant en compte les contributions inter-bandes négligées dans le modèle simple de Drude (transitions hybrides).

Le Chapitre III présente une étude comparative entre réponse numérique et expérimentale du capteur SPR à fibre optique sous des conditions réelles de fonctionnement. Cela nous a amené à prendre en compte la rugosité dans notre modèle de simulations. Nous détaillons dans ce chapitre, les différentes étapes de réalisation de la fibre capteur. Ainsi, nous menons des caractérisations de couches métallisées. Après avoir validé le modèle numérique avec nos premiers résultats expérimentaux, nous terminons ce chapitre par une analyse des différents paramètres ayant un effet sur la réponse de ce type de capteur et selon différentes conditions expérimentales. Une attention particulière est portée sur la sensibilité et sur la limite de détection par l'intermédiaire du calcul du **SNR** (*Signal to Noise Ratio*).

Le chapitre IV est consacré à valider l'intérêt d'un capteur SPR à fibre optique pour des analyses cinétiques en le testant avec l'association d'un système micro fluidique. Après un rappel sur la mécanique des fluides dans les microsystemes, nous détaillons le couplage du phénomène de transport (convection et diffusion) avec la réaction d'adsorption et de désorption de molécules sur la surface. Par les méthodes dites des « éléments finis », le taux de recouvrement de la surface active est alors extrait de ces simulations et réinjecté dans notre calcul de la réponse optique des fibres capteurs. Une comparaison entre les résultats obtenus par notre modèle et les résultats expérimentaux est présentée afin de montrer la validité de notre modèle en temps réel de mesure. Finalement, nous présentons une étude numérique portant sur l'influence de certains paramètres physiques sur la réponse cinétique du capteur.

Références:

- [1] J. Homola, S.S. Yee and D. Myszka In: F.S. Ligler, Editor, Optical Biosensors: Present and Future, Elsevier Science, New York (2002).
- [2] C. Nylander, Bleiberg, T.Lind: Gas detection by means of surface plasmon resonance, Sensors and actuators 3 (1982) 79-88.
- [3] H.Raether, Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings, Springer-verlag berlin Heidelberg (1988).
- [4] A. Leung, P.M. Shankar, R.Mutharasan: A review of fiber-optic biosensors, Sensors and Actuators B125 (2007) 688-703.
- [5] J. Homola, S.S. Yee and G.Gauglitz: Surface Plasmon resonance sensors: review, Sensors and Actuators B 54(1999)3-15.
- [6] A.K Sharma, R. Jha, B.D Gupta: Fiber-optic sensors based on surface Plasmon resonance: a comprehensive review. IEEE Sens J 7 (2007) 1118–1129

PLASMON DE SURFACE : DEFINITION – APPLICATIONS - CAPTEURS

I-1 Introduction	9
I-2 Plasmons de volume et plasmons de surface	9
I-2-1 Quelques dates clés	9
I-2-2 Plasmons et théorie de Drude	10
I-2-3 Relations de dispersion des plasmons de surface.....	11
I-2-4 Relation de couplage plasmon-lumière	14
I-2-5 Plasmons de surface localisés.....	17
I-3 Exemples d'applications	17
I-4 Capteurs à résonance des plasmons de surface : principe de fonctionnement et avantage des capteurs SPR à fibre optique.....	21
I-4-1 Le capteur SPR conventionnel	21
I-4-2 Les Biocapteurs.....	22
I-4-3 SPR Versus Fluorescence	24
I-4-4 Importance de la microfluidique	24
I-5 Capteurs SPR à fibre optique : État de l'art.....	25
I-5-1 Sensibilité, Limite de détection et gamme de fonctionnement	26
I-5-2 « Reflection-based fiber-optic » RFO	27
I-5-3 « Transmission-based fiber-optic » TFO	29
I-5-4 Fibres polies	30
I-5-5 Fibres effilées	32
I-5-6 Fibres dites « hétéro-cœur »	33
I-5-7 Capteur FO à base de nanoparticules d'or	33
I-6 Conclusion	34
Bibliographie	36

I-1 Introduction

Dans ce chapitre, nous commencerons par un rappel général sur l'origine des plasmons de volume, puis des plasmons de surface. A partir de ces quelques définitions nous aborderons alors les différentes méthodes expérimentales permettant de les mettre en évidence et comment il a été envisagé de les utiliser pour des applications en recherche et en optoélectronique.

Dans un second temps, il sera alors possible de montrer comment ces ondes de surface sont particulièrement intéressantes pour la réalisation de chemo- et bio-capteur, en s'appuyant sur une revue non exhaustive des capteurs basés sur la résonance des plasmons de surface, encore connus sous le nom de capteur SPR. Nous poursuivrons par un état de l'art des capteurs à fibre optique basés sur la résonance des plasmons de surface qui sera le sujet principal de ce travail de thèse. Nous terminerons ce chapitre en mettant en évidence l'importance de ce travail de thèse vis à vis des quelques travaux existants dans le domaine expérimental et théorique des capteurs SPR à fibre optique.

I-2 Plasmons de volume et plasmons de surface

I-2-1 Quelques dates clés

Les plasmons de surface ont été originalement découverts par *R.W. Wood* en 1902. Lors de son observation du spectre de réflectivité spéculaire des réseaux de diffraction, il remarqua des anomalies sous forme des fines bandes sombres dans le spectre diffracté [1]. Impossible à interpréter avec la théorie dite scalaire de la diffraction de la lumière, il faudra alors attendre le début des années 1940 et le développement de la théorie vectorielle, avec les travaux de *U. Fano* pour trouver une interprétation théorique de ces anomalies, basée sur l'existence des ondes de surface (plasmon de surface) supportées par le réseau [2].

En 1965, *A. Hessel* et *A. A. Oliner* proposent une théorie plus générale des anomalies de Wood pour les réseaux métalliques. Ils interprètent ces anomalies par des effets de résonance provenant du couplage entre l'onde incidente et les modes propres du réseau [3]. Une amplification très importante du champ électromagnétique local est alors associée à cette résonance. S'appuyant sur cette idée, trois ans plus tard *A. Otto* (1968) met en évidence expérimentalement que les ondes de surface peuvent être excitées en utilisant la réflexion totale frustrée [4]. Dans la même année, *E. Kretschmann* et *H. Raether* obtiennent les mêmes résultats à partir d'une configuration différente, la méthode de réflexion totale atténuée [5]. Dès lors, les applications de ce phénomène vont être exploitées dans :

- (i) la spectroscopie optique à haute sensibilité : effet SERS (surface enhanced Raman Scattering), la fluorescence, la génération d'harmonique secondaire (SHG) et la résonance des plasmons de surface (SPR) utilisée à des fins de détection d'un petit nombre de molécules adsorbées sur une surface;

- (ii) la propagation et le guidage de la lumière à l'échelle submicronique.

Aujourd'hui, l'intérêt pour les plasmons de surface n'est plus à démontrer. En particulier signalons le succès de la résonance des plasmons de surface (SPR) qui permet de mesurer des variations d'indice de réfraction et des épaisseurs de couches organiques avec une grande précision, d'où la conception des capteurs biologiques capables de détecter les interactions entre enzymes et substrat, antigènes/anticorps, ou encore des interactions ADN/protéines.

I-2-2 Plasmons et théorie de Drude

Plasmons de volume

Le comportement des électrons de conduction dans un métal a depuis longtemps été étudié en prenant comme modèle idéal celui de *P. Drude* (1900) où le métal est supposé être constitué d'un gaz d'électrons libres ignorant le réseau dans une première approximation (concept du plasma). Suivant ce modèle, il apparaît que ce gaz d'électrons présentera des oscillations de densité de charge, à travers tout le métal. Le quantum d'énergie de cette oscillation ou « plasmon de volume » est donnée par $\hbar\omega_p$ avec :

$$\omega_p = \sqrt{\frac{N e^2}{m \varepsilon_0}} \quad (\text{I-1})$$

où N est le nombre d'électrons libres par unité de volume, e la charge de l'électron, m sa masse et ε_0 la constante diélectrique du vide. Un rapide calcul pour une densité N de l'ordre de 10^{23} électrons libre/cm³ conduit à un quantum d'environ 12 eV. Les plasmons de volume ont alors été largement étudiés expérimentalement par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (*Electron energy loss spectroscopy - EELS*).

En développant le modèle de Drude, on peut aussi mettre en évidence la dépendance en fréquence de la permittivité ε_m du métal. On parlera alors de fonction diélectrique plutôt que de constante diélectrique que l'on réservera aux diélectriques. En particulier on montre que cette fonction est complexe $\tilde{\varepsilon}_m(\omega) = \varepsilon_1 + i\varepsilon_2$ et qu'elle peut encore s'écrire comme :

$$\tilde{\varepsilon}_m(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\omega_\tau)} \approx 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (\text{I-2})$$

Rappelons que la partie réelle de la fonction diélectrique traduit le caractère inductif du milieu, et qu'elle peut être positive ou négative pour un métal, selon la pulsation. La partie imaginaire quant à elle traduit le caractère dissipatif du milieu (effet Joule) et qu'elle est toujours positive.

Plasmons de surface

Le traitement complet par les lois de l'électromagnétisme du mouvement coopératif des

électrons libres dans un milieu métallique semi-infini (conditions de continuité à l'interface), permet de montrer l'existence de modes particuliers pouvant se propager le long de l'interface entre le métal et le vide (ou le milieu diélectrique). Ces modes électromagnétiques correspondant à des ondes de surface ont été nommés « plasmons de surface » (figure I.1). Ces plasmons de surface présentent alors un large spectre de fréquence propre dépendant de leur vecteur d'onde k (de 0 à $\omega = \omega_p/\sqrt{2}$). Nous reviendrons sur leur courbe de dispersion dans la suite de ce chapitre.

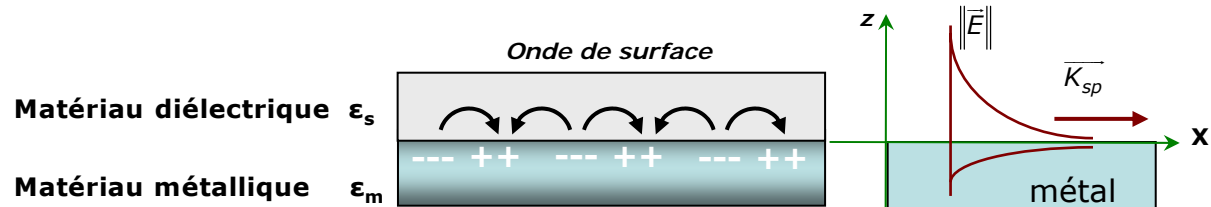


Figure I-1 : Oscillation de charges (plasmon de surface) à l'interface métal/diélectrique. La décroissance exponentielle des champs électromagnétiques de part et d'autre de l'interface est représentée sur la figure de droite.

Il est connu que ces plasmons de surface peuvent être divisés en deux sous groupes, suivant leur distance de propagation : les plasmons de surface localisés et les plasmons de surface délocalisés ou étendus. Dans ce travail et tout particulièrement dans la suite de ce chapitre, nous nous limiterons exclusivement aux plasmons de surface délocalisés et à leur résonance, car ils sont à la base du fonctionnement de nos capteurs. En particulier, nous décrirons le phénomène dit de « résonance » selon les différents modes de couplage optique possibles.

I-2-3 Relation de dispersion des plasmons de surface

Les plasmons de surface délocalisés (PS) sont donc des ondes de surface se propageant à l'interface d'un milieu diélectrique, de constante relative positive ($\epsilon_s > 0$), et d'un film métallique (non-magnétique) de constante diélectrique complexe $\tilde{\epsilon}_m$, dont la partie réelle est négative dans le domaine visible. Pour étudier les plasmons de surface, il est intéressant de tracer sur un graphe la fonction liant la pulsation du PS en fonction de son vecteur d'onde. En particulier, il est alors possible de prévoir les conditions de couplage avec la lumière par exemple, et d'en déduire les caractéristiques importantes de propagation de l'onde. Nous pourrions montrer que le champ électromagnétique résultant d'une telle fluctuation, présente une décroissance exponentielle de part et d'autre de l'interface (Figure I-1).

Pour introduire ces courbes de dispersion, nous devons résoudre les équations de *Maxwell* appliquées aux ondes de surface présentes à l'interface plane entre un milieu métallique (*m*) et un diélectrique ou vide (*s*). Considérons ces deux milieux comme linéaires, homogènes, isotropes et non magnétiques.

Dans cette géométrie plane, nous recherchons des fonctions d'ondes, solutions des

équations de *Maxwell*, qui se propagent parallèlement à l'interface. Considérons les champs électriques et magnétiques dans les deux milieux **s** et **m** selon les équations I-3, (cas particulier d'une onde de polarisation transverse magnétique TM encore notée-p):

$$\begin{aligned}\vec{H}_j &= (0, \vec{H}_{jy}, 0) \cdot \exp[+i(k_{jx}x + k_{jz}|z| - \omega t)] \\ \vec{E}_j &= (\vec{E}_{jx}, 0, \vec{E}_{jz}) \cdot \exp[+i(k_{jx}x + k_{jz}|z| - \omega t)]\end{aligned}\quad (I-3)$$

Pour $z > 0$ (dans le diélectrique) et pour $z < 0$ (dans le métal), avec $j = s, m$ et où k_{jx} est la constante de propagation de l'onde plasmon selon l'axe Ox.

Ces champs doivent satisfaire les équations de Maxwell (équations I-4) :

$$\begin{aligned}\nabla \times \vec{H} &= -\partial \vec{D} / \partial t \\ \nabla \times \vec{E} &= -\partial \vec{B} / \partial t \\ \nabla \cdot \vec{D} &= 0 \\ \nabla \cdot \vec{H} &= 0\end{aligned}\quad (I-4)$$

où \vec{E} représente le vecteur champ électrique (V/m), \vec{B} l'induction magnétique (Tesla), \vec{D} le vecteur déplacement électrique (C/m²) et \vec{H} le champ magnétique (A/m²).

En tenant compte des conditions de continuité à l'interface (équations I-5 et I-6) :

$$\begin{aligned}E_{mx} &= E_{sx} \\ H_{my} &= H_{sy} \\ \tilde{\epsilon}_m E_{mz} &= \epsilon_s E_{sz} \\ k_{mx} &= k_{sx} = k_x^{sp}\end{aligned}\quad (I-5)$$

Il vient le système suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} H_{my} - H_{sy} = 0 \\ \frac{k_{mz}}{\tilde{\epsilon}_m} H_{my} + \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} H_{sy} = 0 \end{array} \right. \quad (I-6)$$

Ce système n'a de solution que si le déterminant est nul, ce qui revient à écrire la relation de dispersion :

$$\frac{k_{sz}}{\epsilon_s} + \frac{k_{mz}}{\tilde{\epsilon}_m} = 0 \quad (I-7)$$

À partir des relations de *Maxwell* (équations I-4) et les conditions de continuité à l'interface (équations I-5 et I-6), on obtient (voir Annexe):

$$k_x^2 + k_{jz}^2 = k_0^2 \epsilon_j \quad \text{avec } j = s, m \quad (I-8)$$

avec k_0 la norme du vecteur d'onde dans le vide ($k_0 = \frac{\omega}{c}$)

Finalement, l'expression de la constante de propagation (ou encore « relation de dispersion $\omega - k$ ») de l'onde plasmon sera écrite sous la forme :

$$k_x^{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\epsilon_s \cdot \tilde{\epsilon}_m(\omega)}{\epsilon_s + \tilde{\epsilon}_m(\omega)}} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_s \cdot \tilde{\epsilon}_m(\omega)}{\epsilon_s + \tilde{\epsilon}_m(\omega)}} \quad (\text{I-9})$$

et

$$k_{jz} = \sqrt{\epsilon_j \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 - k_x^2} \quad (\text{I-10})$$

Il est intéressant de noter à ce niveau, que dans le cas d'une interface métal-air par exemple, nous aurons dans le domaine visible $\epsilon_s = 1$ et $\epsilon_m < -1$ ce qui conduit à $k_x > \omega/c$ et alors $k_{jz} = i|k_{jz}|$ devient imaginaire pur. Ce résultat confirme que l'onde de surface présentera un champ maximal à l'interface qui diminuera exponentiellement dans les deux milieux (pour les $|z|$ croissants).

Sur la figure I-2, nous avons tracé la relation de dispersion (équation I-9). La figure montre que la courbe de dispersion des plasmons de surface se situe toujours « à droite » de la courbe dite ligne de lumière à laquelle correspond la relation de propagation de la lumière dans le vide $k = \omega/c$.

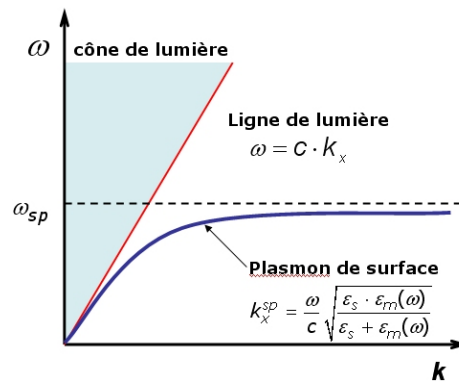


Figure I-2 : Relation de dispersion des plasmons de surface.

Nous remarquons que la relation de dispersion des plasmons de surface reste toujours strictement en dessous de la ligne de lumière (figure I-2). Cette absence d'intersection entre la ligne de lumière et la courbe de dispersion des PS interdit tout couplage ou résonance entre une onde électromagnétique du domaine visible en particulier, et un mode de propagation des plasmons de surface. En d'autre terme, il est impossible d'exciter les PS en éclairant directement le métal avec une source de lumière, car l'accord de phase ne peut pas être réalisé sans système particulier de couplage comme nous allons le montrer.

I-2-4 Relation de couplage plasmon-lumière

Nous venons de représenter graphiquement la relation de dispersion $\omega - k$ qui représente la pulsation du plasmon de surface ω_{sp} en fonction de la norme du vecteur d'onde k_{sp} . Cette représentation permet d'expliquer pourquoi les plasmons de surfaces sont dits « non radiatifs ». Nous avons pu montrer qu'aucun couplage entre les plasmons de surface et la lumière ne pourra être observé, car il faudrait satisfaire l'égalité entre la norme du vecteur d'onde des plasmons de surface k_{sp} et la projection dans le plan de la surface du vecteur d'onde k_x de lumière incidente. Ceci s'écrit simplement selon l'équation I-11 :

$$\vec{k}_x (photon) = \vec{k}_{sp} \quad (I-11)$$

Pour coupler les plasmons de surface avec un rayonnement électromagnétique photonique, on remarque en particulier qu'il est nécessaire d'augmenter la composante (k_x) du vecteur d'onde du photon d'une quantité (Δk_x) afin que la condition de résonance décrite par l'équation (I-11) soit satisfaite. Pour réaliser le couplage, il est donc indispensable d'avoir recours à l'utilisation d'un système de couplage, encore appelé « coupleur ». Le rôle du coupleur est d'« accorder » l'onde lumineuse incidente avec l'un des modes des plasmons de surface, afin qu'il y ait un échange d'énergie entre les deux.

En effet, avec l'utilisation d'un coupleur et sous réserve que la relation (I-11) soit vérifiée, l'énergie apportée par les photons peut être transférée aux plasmons. Le transfert d'énergie s'accompagne alors d'une exaltation de l'intensité du champ au voisinage de l'interface (localisation d'énergie), et par l'absorption des photons. Ce phénomène quantique optique-électrique résultant du couplage entre les photons incidents et les électrons du métal est encore appelé plasmons-polaritons de surface (SPP) ou résonance des plasmons de surface. C'est le mécanisme mis en jeu dans les capteurs chimiques que nous étudierons.

Il existe principalement Deux approches permettant de coupler les plasmons avec la lumière:

1. En faisant passer la lumière incidente à travers un milieu d'indice de réfraction supérieur à celui du milieu diélectrique siège des ondes plasmons.
2. En ajoutant un pseudo-moment, dû à la structure de l'interface métallique via un réseau périodique ou plus généralement via une surface rugueuse.

Dans la suite, nous présentons successivement la méthode ATR (*Attenuated Total Reflexion*) basée sur la première approche puis le couplage par réseau qui se base sur la seconde. Signalons que les plasmons de surface peuvent aussi être observés par bombardement d'électrons (avec un microscope électronique à transmission par exemple).

- Couplage par prisme : méthode (ATR)

La méthode dite ATR (*Attenuated Total Reflexion*) est la plus employée pour exciter les plasmons de surface. Elle fut mise en pratique pour la première fois par A. Otto puis par E. Kretschmann qui utilisent un prisme comme coupleur (figure I-3) [4-5].



Figure I-3 : représentation des deux méthodes dites ATR (*Attenuated Total Reflexion*): à gauche, configuration de Kretschmann-Raether, à droite, configuration d'Otto.

Si le faisceau incident ne se propage plus dans le vide, mais dans un milieu d'indice n et s'il arrive sous un angle d'incidence θ , alors la composante tangentielle du vecteur d'onde des photons est augmentée et vaut:

$$k_x = \sqrt{\varepsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta \quad (\text{I-12})$$

Pour un angle spécifique θ , la condition de couplage est obtenue par l'équation:

$$k_x = k_{sp} \rightarrow \sqrt{\varepsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_s}{\varepsilon_m + \varepsilon_s}} \quad (\text{I-13})$$

où $\varepsilon_p, \varepsilon_s, \varepsilon_m$ sont respectivement les fonctions diélectriques du prisme, de l'échantillon et de la couche métallique. Ce couplage est représenté sur la figure I-4.

Dans les deux configurations précédentes, le principe est de coupler la lumière incidente avec les plasmons de surface. Rappelons que ces plasmons sont des oscillations quantifiées et collectives d'électrons libres à l'interface d'un métal et d'un diélectrique. Ce couplage peut être provoqué par réflexion totale d'une onde optique injectée sur l'interface opposée. L'onde évanescence pénétrant la couche métallique permet d'exciter un plasmon de surface à l'interface métal/diélectrique extérieur.

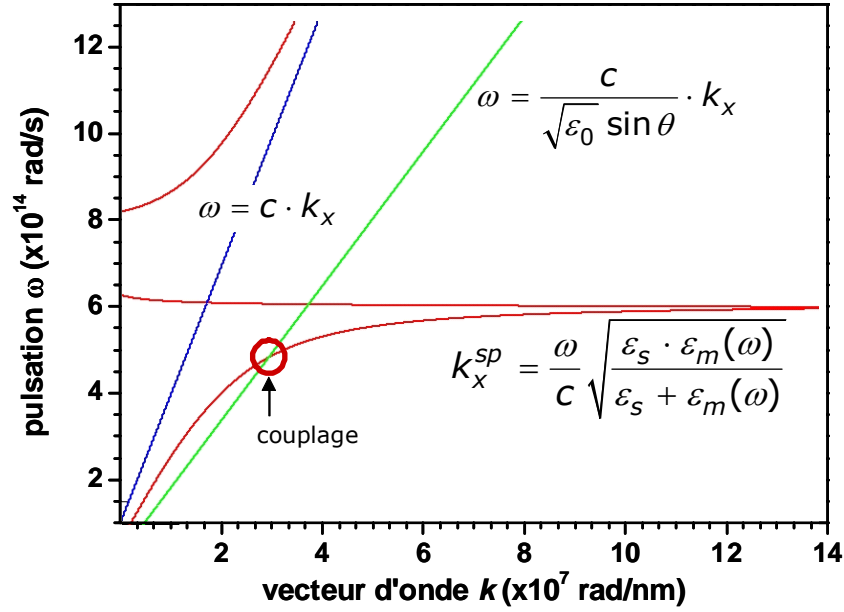


Figure I-4 : Relation de dispersion des plasmons de surface pour un système prisme/métal ($\tilde{\epsilon}_m(\omega) = \epsilon_m^\infty - \omega_p^2 / [\omega(\omega + i\omega_\tau)]$ avec $\epsilon_m^\infty = 2,48$; $\omega_p = 1,35 \times 10^{16}$ rad/s; $\omega_t = 7,62 \times 10^{13}$ rad/s; $\epsilon_0 = 2,2$).

- Couplage par réseau

Si l'interface métal/diélectrique est périodiquement déformée d'un pas de a , l'onde optique incidente est diffractée sous différents angles suivant les caractéristiques du réseau de diffraction (indice, période, géométrie). Lorsqu'un photon arrive sur ce type de surface, il y aura un « allongement » de la composante (k_x) du vecteur d'onde de la lumière d'une quantité ($\pm \Delta k_x$) tel que :

$$\sqrt{\epsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta = k_{sp}(\omega) \pm n \frac{2\pi}{a} = k_{sp}(\omega) \pm \Delta k_x \quad (\text{I-14})$$

avec n un entier relatif. Cette expression se généralise en posant Δk_x , comme le terme qui traduit les perturbations associées au réseau ou à la rugosité de surface par rapport à la surface plane.

Dans ce cas, le couplage de plasmon de surface peut se traduire graphiquement en décalant la courbe de dispersion de plasmons de surface d'une quantité $\pm \Delta k_x$ (figure I-5). On peut donc ramener la relation de dispersion des PS dans le cône de lumière, ce qui permet de coupler les plasmons de surface avec une onde électromagnétique grâce au réseau.

L'étude théorique de ce phénomène est plus complexe que celui décrit dans le cas d'un couplage par prisme. Le signe (\pm) représente le sens de propagation de l'onde. Si le pas a de la surface rugueuse est suffisamment petit devant la longueur d'onde, c'est à dire si Δk_x est suffisamment grand, la rugosité considérée comme une faible perturbation de

la surface plane favorise une localisation des plasmons ce qui conduit à l'obtention de très forts champs électromagnétiques nécessaires pour l'exaltation [6]. Cet effet est en particulier exploité en diffusion Raman exaltée de surface (effet *SERS*) pour détecter spécifiquement des espèces adsorbées avec des concentrations extrêmement faibles.

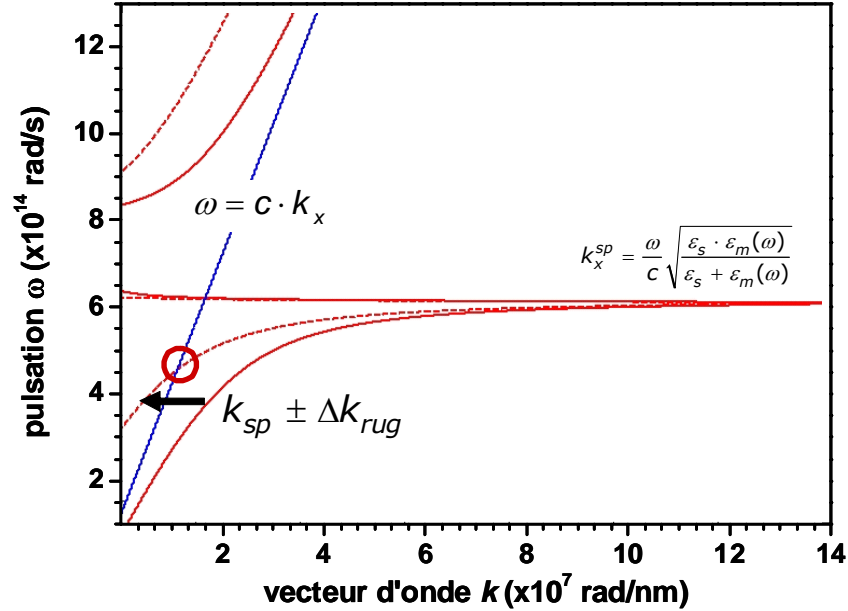


Figure I-5 : Relation de dispersion des plasmons de surface pour un système prisme/métal/réseau ($\Delta k_x = 2\pi/10^{-6}$ (rad / nm)) ($\tilde{\epsilon}_m(\omega) = \epsilon_m^\infty - \omega_p^2 / [\omega(\omega + i\omega_r)]$) avec $\epsilon_m^\infty = 2,48$; $\omega_p = 1,35 \times 10^{16}$ rad/s; $\omega_r = 7,62 \times 10^{13}$ rad/s)

I-2-5 Plasmons de surface localisés

Les plasmons de surface existent aussi pour des nanoparticules métalliques [7]. Ces plasmons diffèrent des plasmons de surface délocalisés par différentes propriétés : l'effet de taille ainsi que la nature des particules métalliques ont une influence marquante sur la condition de résonance. Ces plasmons de surface sont radiatifs et peuvent se coupler directement avec la lumière. Ils présentent un fort confinement du champ électromagnétique au voisinage des particules métalliques et ils ne se propagent que sur des distances nanométriques. Ce confinement joue un rôle essentiel en diffusion Raman exaltée de surface (effet *SERS*) qui est basé sur l'exaltation du champ électromagnétique au voisinage des particules [8]. Ainsi qu'en microscopie optique en champ proche, la résonance de plasmon localisé a été utilisée dans différents dispositifs afin d'augmenter le signal détecté.

I-3 Exemples d'applications

Les applications basées sur le principe de la résonance des plasmons de surface (SPR) sont nombreuses. Elles varient du diagnostic à la détection des molécules aux applications en photonique. Citer tous les travaux faits jusqu'à nos jours s'avère une

tâche difficile et je ne présenterai que quelques applications qui m'ont paru présenter un potentiel industriel important.

Guides d'onde

La propriété singulière des plasmons de surface est de guider la lumière le long d'une interface métal/diélectrique [9]. Cette alternative aux guides d'ondes diélectriques connaît un très fort essor ces dernières années. Elle a l'avantage de la simplicité (un ruban métallique est suffisant), et permet un fort confinement de la lumière (onde évanescente). De plus, la nature bidimensionnelle des PS confère une flexibilité considérable quant à l'ingénierie des circuits optiques intégrés en photonique et optoélectronique e.g. la communication optique, optique sub-longueur d'onde, stockage des données, génération de lumière avec des dispositifs de dimensions nanométriques [10].

Imagerie optique haute résolution (SNOM champ proche optique)

Nous verrons que le confinement du champ électromagnétique des PS aux interfaces offre une très haute sensibilité aux conditions de l'état de surface. Cette sensibilité est utilisée pour étudier les molécules absorbées en surface, les défauts,... La microscopie SPR a alors été développée pour devenir un instrument d'imagerie des surfaces en temps réel à partir des signaux SPR [11]. Un point critique de cette microscopie SPR est la limite de résolution; ceci est lié à l'atténuation (ou l'évanescence) du PS dans le métal. Les métaux comme l'or et l'aluminium ont une faible longueur de propagation ($\sim 2\mu\text{m}$ pour l'or), et donc convenables pour l'imagerie à grande résolution des particules et des cellules.

Les PS, de part leur champs évanescents, ne peuvent pas être observés par des microscopes à champ lointain classiques sauf si ces PS sont convertis en lumière par l'interaction avec des inhomogénéités de surface. C'est justement avec le développement des microscopies en champ proche que l'étude locale des plasmons est devenue possible. En particulier avec le microscope optique en champ proche SNOM (*Scanning Near-field Optical Microscopy*) qui offre la possibilité de sonder le champ des PS directement sur la surface où ils se situent [11]. Le SNOM constitue une voie particulièrement prometteuse pour l'étude de nano-objets. Le principe de base de cette technique consiste à balayer la surface d'un échantillon avec une pointe optique sub-longueur d'onde portée à quelques nanomètres au-dessus de la surface de l'échantillon. L'interaction, dans le champ proche électromagnétique, entre la sonde et l'objet fournit une image optique de l'objet. Généralement, la détection en champ proche se fait au moyen d'une fibre optique amincie placée au voisinage (10 à 50 nm) de la surface de l'objet étudié (figure I-6). L'utilisation de cette microscopie a trouvé plusieurs domaines d'application, citons par exemple en biologie et biochimie, que ce soit pour l'analyse bio-moléculaire [12], l'étude de la fluorescence d'échantillons biologiques [13], l'étude de propriétés des protéines [14] ou encore la détection de molécule unique [15].

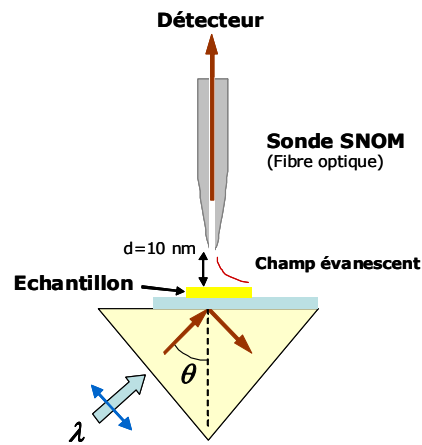


Figure I-6 : Principe du microscope à balayage à effet tunnel optique (PSTM). Un champ évanescent est créé par réflexion totale. Une pointe SNOM est approchée à la surface et frustre le champ évanescent afin de le détecter.

L'inconvénient de ce type de méthode est qu'il faut déplacer la sonde optique sur l'ensemble de l'objet pour obtenir une image, en gardant un contrôle très précis de la distance sonde-surface. Ce mécanisme qui peut prendre plusieurs minutes rend impossible l'étude de nano-objets en mouvement.

Photodetection ultrarapide

Dans le cas d'un réseau de fentes dont la largeur a et la période d sont petites devant la longueur d'onde de la lumière incidente, le couplage de la lumière incidente avec les plasmons de surface peut se faire de deux façons différentes (figure I-7). Par l'intermédiaire de la résonance de surface horizontale ou de la résonance de surface verticale [16].

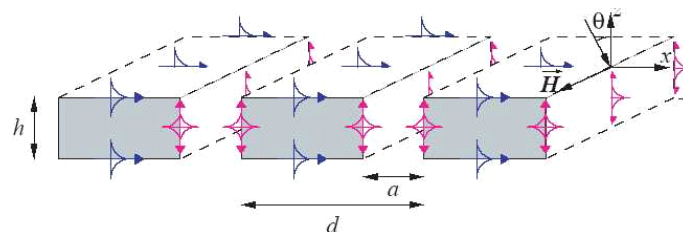


Figure I-7 : Réseau de fentes : Résonances de surface horizontale (bleu) et verticale (rouge).

Dans le second cas, une onde incidente arrivant sur le réseau métallique pourra donc exciter le mode fondamental TM guidé des fentes.

Ce mode fondamental TM guidé est composé de deux ondes de plasmon de surface couplées sur les deux parois métalliques verticales de chaque fente. Elles se propagent verticalement le long des murs métalliques avec une faible atténuation liée uniquement à l'absorption dans le métal. De plus, elles sont partiellement réfléchies aux extrémités supérieures et inférieures du guide que constitue chaque fente formant ainsi une cavité Fabry-Pérot. Nous présentons ici deux types de photodétecteurs récemment développés :

1. Le photodétecteur à cavité résonante: Il est constitué d'un miroir de Bragg semi-conducteur sur laquelle on dépose un réseau métallique semi-transparent qui joue le

rôle d'un miroir supérieur semi-réfléchissant. Il suffit donc de faire résonner l'onde entre les deux miroirs pour obtenir une absorption efficace confinée dans une cavité résonante.

2. Le photodétecteur à réseau métal/semi-conducteur: Sa structure est constituée d'un réseau métallique déposé sur une fine couche de semi-conducteur absorbante. L'absorption se fait donc entre les deux électrodes métalliques. Le faible volume de la zone d'absorption permet de diminuer le temps de collection de charges de l'ordre de la picoseconde, l'ajout d'un miroir de Bragg permet d'augmenter l'efficacité de la structure. La principale difficulté liée à ce type de détecteur est la méthode de fabrication qui est difficile à mettre en œuvre.

Cellules photovoltaïques

La possibilité d'améliorer l'absorption optique dans les semi-conducteurs soumis à une radiation incidente, a été explorée par l'équipe *Photovoltaics Special Research Center* de l'université de Nouvelle-Galles du Sud, à Sydney [17]. Cette équipe détient le record mondial (2007) du taux de conversion (24,5%) d'une cellule photovoltaïque en silicium cristallin. La méthode utilisée consiste à déposer un film d'argent d'environ 10 μm d'épaisseur sur la surface de la cellule solaire et de la chauffer ensuite à 200°C. Sous l'effet de la chaleur, le film se craquelle en domaines d'environ 100 nm de largeur. Les plasmons de surface de ces nanoparticules d'argent augmentent ainsi l'absorption de la lumière.

Les taux de conversion de cellules en couches minces sont ainsi améliorés. La capacité d'absorption de la lumière des couches minces a été augmentée d'un facteur 16, pour une lumière de longueur d'onde de 1050 nm. Elle a été également multipliée d'un facteur 7 pour la lumière de longueur d'onde 1200 nm. Cette augmentation du taux d'absorption se traduit par un rendement plus élevé, compris entre 13 et 15%. Cette amélioration est efficace car le silicium absorbe faiblement la lumière dans cette partie du spectre.

La diffusion Raman exalté de surface (SERS : Surface enhanced Raman scattering)

La spectroscopie Raman fournit une analyse détaillée de la structure chimique d'un objet. La section efficace de diffusion Raman d'un petit objet est souvent faible et son signal ne pourra être détecté sans utiliser un processus d'exaltation efficace de la diffusion. L'amplification du champ électrique local, consécutive à la résonance des plasmons de surface localisés est mise à profit pour mener des expériences en diffusion Raman exaltée de surface (SERS) [8, 18]. Cet effet se produit en présence de particules métalliques de rugosité particulière ou pour des petits agrégats métalliques.

La rugosité de la couche métallique permet d'exciter les plasmons localisés du métal (exaltation par effet électromagnétique) ainsi que l'excitation par transfert de charges entre le métal et la molécule adsorbée (effet chimique). Le signal Raman des molécules adsorbées sur la couche métallique est alors fortement exalté (cinq à dix ordres de grandeur pour une molécule adsorbée sur une surface rugueuse d'argent, d'or ou de

cuivre). Cette augmentation permet de détecter spécifiquement des espèces adsorbées avec des concentrations extrêmement faibles.

SPR pour la détection et mesures en biophysique

Le phénomène SPR est utilisé pour la détection, l'identification, et la quantification des molécules d'un côté et les analyses biophysiques des interactions biomoléculaires d'un autre. De nombreux domaines tels que le contrôle de l'environnement, la biotechnologie, l'alimentaire, la sécurité et la médecine sont ainsi couverts. La technologie SPR présente quelques avantages dans le domaine des biocapteurs, en particulier la facilité d'utilisation, la sensibilité et les mesures en temps réel. Les applications de détection varient de la compréhension des interactions analyte-ligand, antigène-anticorps, ou encore de l'analyse des affinités de liaison et des constantes cinétiques de l'adsorption des molécules.

Cette application étant en relation directe avec le sujet de thèse, elle sera largement développée dans la suite de ce chapitre, et plus particulièrement nous nous intéresserons aux capteurs à fibre optique basé sur la résonance des plasmons de la surface (FO-SPR).

I-4 Capteurs à résonance des plasmons de surface : principe de fonctionnement et avantage des capteurs SPR à fibre optique

I-4-1 Le capteur SPR conventionnel

Dans la section précédente, nous avons introduit le capteur SPR. Dans cette section, nous présenterons son exploitation générale en bio-détection, biocapteur SPR en particulier. Finalement, nous discuterons de l'importance de la micro-fluidique dans ce domaine. Notons que cette section ne couvre pas tous les aspects des systèmes de détection, comme les biocapteurs, ni des systèmes micro fluidiques. Notre but se limite à présenter brièvement l'importance de technique SPR et de la microfluidique pour un système de détection.

Les capteurs de molécules sont devenus aujourd'hui indispensables dans de nombreux domaines allant de la recherche scientifique (fondamentale et appliquée) à l'observation des processus de production industrielle ou le contrôle de l'environnement mais aussi et surtout dans le secteur des sciences de la vie (biologie, biochimie, médecine, agro-alimentaire et écologie).

Les capteurs à résonance des plasmons de surface sont intensivement utilisés pour leur grande sensibilité, leur réponse rapide en temps réel et leur grande précision. Nous avons vu dans la première partie de ce chapitre qu'une conséquence énergétique de la résonance des plasmons de surface (SPR) est visible sur le faisceau lumineux réfléchi, qui présentera une chute d'intensité à l'angle de résonance si la détection se fait par interrogation angulaire, ou bien à la longueur d'onde de résonance si elle se fait par modulation de la longueur d'onde de la lumière incidente (figure I-8). Il existe donc deux méthodes de détection d'après la condition de couplage (de résonance) données par

l'équation I-15 [19,20]:

$$\sqrt{\varepsilon_p} \frac{2\pi}{\lambda} \sin \theta = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\tilde{\varepsilon}_m(\omega) \times \varepsilon_s}{\tilde{\varepsilon}_m(\omega) + \varepsilon_s}} \quad (\text{I-15})$$

- 1- l'interrogation angulaire (θ) qui consiste à suivre la position angulaire du minimum de réflectivité SPR à une longueur d'onde λ fixe et
- 2- l'interrogation spectrale qui consiste à suivre la position spectrale (λ) du minimum de réflectivité SPR à un angle d'incidence θ fixe.

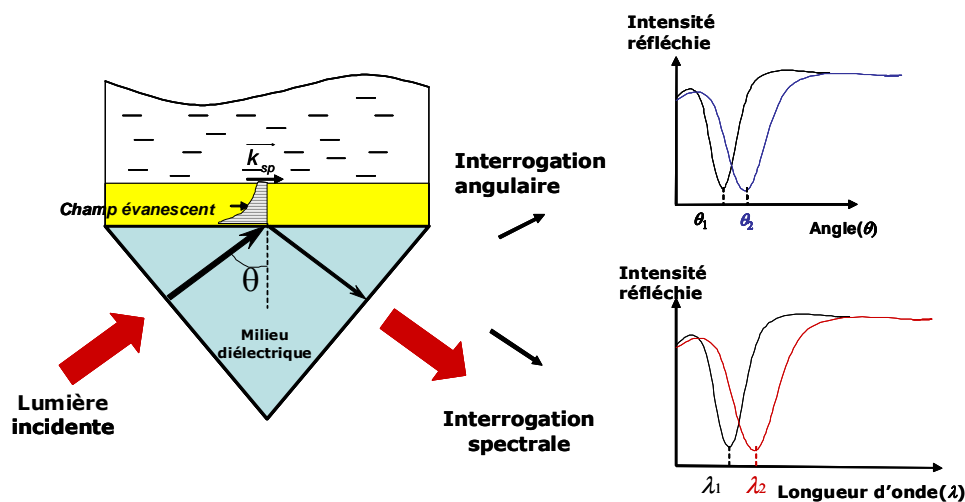


Figure I-8 : Principe du capteur SPR. Deux méthodes sont utilisées pour traquer la résonance des plasmons : l'interrogation angulaire qui consiste à faire varier θ pour une longueur d'onde fixée, ou l'interrogation spectrale qui consiste à faire varier la longueur d'onde pour un angle θ fixé. Une variation de l'environnement (indice) se traduira par un décalage des pics de résonance.

Différentes configurations de capteur SPR ont été développées : à partir de guide d'onde optique, de réseaux ou de prisme (configuration de *Raether-Kretschman*) qui reste le coupleur le plus usuel [20]. Durant la dernière décennie, on voit apparaître l'utilisation de fibres optiques comme coupleur sous différentes formes. Les capteurs à fibre optique ont un mérite, c'est celui d'avoir ouvert des domaines d'applications industrielles pour la mesure dans des endroits inaccessibles. L'utilisation des fibres optiques présente en plus des qualités générales des capteurs optiques, des avantages très attractifs sur lesquels nous reviendrons dans la suite du chapitre (immunités aux champs électromagnétiques, légèreté, faible encombrement et petite taille).

I-4-2 Les biocapteurs

Un capteur physique devient un « bio-capteur » en déposant un récepteur chimique ou biologique à sa surface [21]. Un biocapteur est donc un dispositif qui utilise les réactions moléculaires pour détecter une cible à analyser. Il associe physiquement l'élément de reconnaissance (récepteur) à un transducteur qui traduit la réaction entre le récepteur et sa cible en un signal physique interprétable (figure I-9).

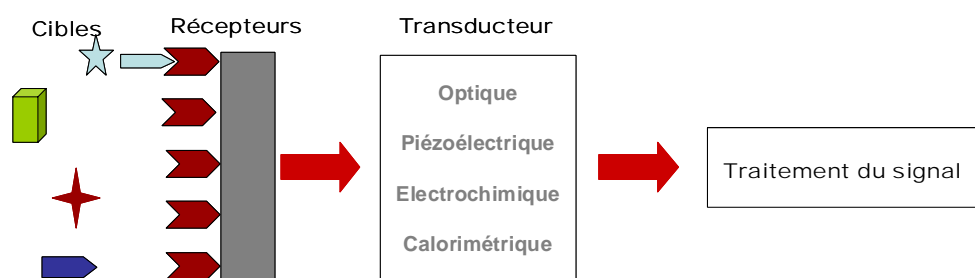


Figure I-9: principe de fonctionnement d'un biocapteur.

Il existe plusieurs types de biocapteurs. Ils se distinguent principalement par le mode de transduction (optique, électrochimique, mécanique ou thermique) ou par la nature de récepteur (chimique ou biologique) [22-24]. Dans le cadre de notre étude, nous nous intéressons à l'un de ces modes de transduction : la résonance des plasmons de surface ou SPR. La SPR permet de détecter et quantifier des interactions moléculaires. De plus, il offre la possibilité de suivre les interactions en temps réel [25]. La SPR peut être appliquée à toutes les applications moléculaires sans marquage des molécules et indépendamment de la nature de récepteur.

Les nombreuses possibilités ouvertes dans ce domaine et le besoin de plus en plus important pour développer des appareils robustes et fiables permettant la compréhension des phénomènes biomoléculaires ont donné naissance à des entreprises spécialisées dans la vente d'appareils SPR, telle que la compagnie BIAcore International créée en 1990 [26]. La configuration des instruments conventionnels tels que le BIAcore et le principe de fonctionnement sont illustrés dans la figure I-10.

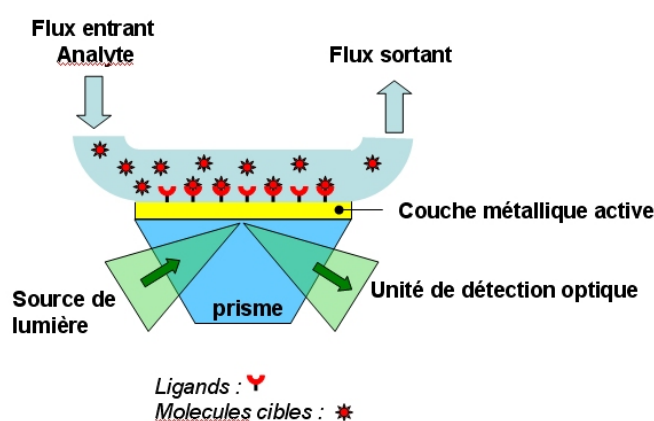


Figure I-10 : Principe de fonctionnement d'un équipement SPR conventionnel.

Ce type d'appareil trouve différentes applications industrielles, en particulier dans l'agroalimentaire [27], l'immunogénicité [28], la protéomique [29,30] et la découverte de médicaments [31]. Plus précisément, la technologie SPR permet de détecter les interactions [26] suivantes :

- protéine/protéine
- ADN/ADN

- protéine/ADN
- lipide/protéine
- systèmes hybrides des molécules.

Le principe de fonctionnement peut se résumer ainsi : le ligand (récepteur) est immobilisé sur l'interface du biocapteur (prisme) pour capturer les cibles appelées ici analytes qui sont injectées sur cette interface par un flux continu à l'aide d'un système microfluidique. Le phénomène de résonance des plasmons de surface est alors détecté grâce à l'interaction entre le faisceau lumineux et la surface d'or. Le signal détecté traduit l'interaction ligand/analyte à l'interface du biocapteur. Les changements de masse (d'indice de réfraction) induits par l'association ou la dissociation des complexes provoquent une perturbation locale de l'indice du milieu diélectrique et influent sur la position de l'angle de résonance. L'enregistrement du déplacement de l'angle de résonance en fonction du temps permet de suivre l'association et la dissociation entre l'analyte et le ligand. Le signal SPR est exprimé en unité de résonance (RU) et tracé en fonction du temps sous la forme d'un sensorgramme. À titre d'exemple, dans la technologie BIAcore, une variation de 1000 RU correspond à une déviation de l'angle de résonance de 0,1 degré et à une fixation de 1ng de protéine par mm² de surface. Une analyse mathématique des données enregistrées permet de quantifier le nombre de molécules greffées et de déterminer les paramètres cinétiques et l'affinité à l'équilibre de l'interaction ligand-analyte.

I-4-3 SPR Versus Fluorescence

Parmi les autres méthodes optiques concurrentes du SPR, la détection par fluorescence reste toujours la technique la plus répandue dans le domaine médical [32-33]. Le principe de détection consiste à marquer les séquences cibles par un fluorophore pour les hybrider avec les sondes. Cette technique est très sensible car elle est capable de mesurer des quantités de l'ordre du picogramme par millilitre (pg/ml). Cependant, elle ne nous offre pas la possibilité de reconnaître les séquences des interactions moléculaires en temps réel. De plus, il faut que les molécules à détecter soient marquées au préalable. Par contre, la technique SPR permet une détection en temps réel et sans marquage des molécules mais le SPR exige cependant un contact direct des molécules cibles avec la surface de la zone sensible pour être immobiliser puis détecter.

I-4-4 Importance de la microfluidique

Il existe alors plusieurs méthodes pour déposer des molécules cibles sur la surface sensible d'un capteur SPR. La plus simple est de plonger la zone sensible dans l'analyte et de laisser le mouvement Brownien (relativement lent) des molécules dans un liquide assurer le renouvellement des molécules au voisinage de la surface active. Le principal avantage de cette méthode est la simplicité du dispositif, mais son inconvénient est le temps nécessaire à la mesure.

Pour augmenter l'efficacité du capteur, l'idée est alors d'augmenter le rapport surface sur volume de la cellule de mesure puis de coupler avec un écoulement laminaire forcé. Ceci

est réalisé en utilisant les technologies dites de microfluidique. Les cellules de mesure sont alors constituées de petits compartiments interconnectés par des microcanaux assurant le convoyage rapide des substances dans les zones de mesure.

Concrètement, une « mini » station fluidique est mise en place pour assurer l'interaction analyte/ligand, permettant si nécessaire de contrôler le flux ainsi que l'exécution automatique des différentes opérations sur le capteur. Par exemple, une pression à l'entrée et à la sortie des microcanaux doit être exercée pour avoir un écoulement constant et rapide des fluides [34-35].

En se basant sur ces faits, il est bien évident que la microfluidique est au cœur du développement des capteurs SPR. Un système de contrôle du flux microfluidique devient une composante clé pour la fabrication et/ou l'utilisation d'un système de bio-détection. On comprend alors pourquoi ces dernières années il y a eu un intérêt grandissant pour la microfluidique, en particulier pour la conception et la fabrication des composants fluidiques et aussi pour leur intégration dans les différentes applications biologiques et biotechnologiques.

I-5 Capteurs SPR à fibre optique : État de l'art

Dès la fin des années 70, quelques capteurs simples utilisant l'optique guidée apparurent dans le marché. Mais ce n'est que vers 1982 que les capteurs à fibres optiques constituèrent réellement une discipline à part entière [36]. Plusieurs principes de mesure pour différents paramètres physiques et chimiques ont été proposés puis expérimentalement vérifiés. Nous nous limiterons dans la suite de ce chapitre à présenter les diverses configurations utilisées dans le cadre des capteurs à fibre optique dont le principe de fonctionnement est basé sur la résonance des plasmons de surface (FO-SPR). En particulier nous nous attacherons aux performances de ces capteurs en donnant les sensibilités et les limites de détection pour chaque configuration quand elles seront connues. Préalablement, nous présenterons les avantages d'utiliser une onde optique guidée dans une fibre optique à cœur homogène pour l'application capteur.

Dans la section précédente, nous avons vu que la technologie SPR conventionnelle était bien rodée et largement répandue dans le monde de la biologie et de la médecine. Dans un contexte de miniaturisation des équipements, et de la recherche de systèmes à bas coût, plusieurs équipes s'intéressent aujourd'hui aux fibres optiques comme coupleur entre les ondes plasmons de surface et la lumière. Les avantages que nous pouvons citer sont : (i) la possibilité de faire des mesures à distance en utilisant la fibre comme capteur et porteur du signal ; cet avantage est particulièrement intéressant pour la détection de polluants dans des environnements à hauts risques (substances toxiques ou bien températures élevées); (ii) une facilité de multiplexage, ce qui permet des mesures simultanées sur plusieurs points d'échantillonnage ; (iii) la miniaturisation du capteur ; (iv) la flexibilité géométrique, permettant l'accès à des endroits difficiles pour d'autres capteurs usuels ; (v) le caractère inerte de la silice et de la lumière, les rendant moins

dangereux dans les environnements explosifs que les capteurs utilisant des signaux électriques. On pourrait également citer comme autres avantages la quasi immunité des fibres optiques vis à vis des interférences électromagnétiques, les faibles pertes sur les signaux transportés (peu d'atténuation), un prix souvent réduit et un faible coût de maintenance.

I-5-1 Sensibilité, Limite de détection et gamme de fonctionnement

Afin de pouvoir comparer, quand cela sera possible, les différentes configurations de capteur FO-SPR nous allons définir les 3 valeurs caractéristiques usuelles : la sensibilité, la limite de détection ou résolution (lié à la précision de la mesure) et la gamme de fonctionnement.

a) La sensibilité S du capteur est définie comme le rapport entre la variation du paramètre caractérisant la résonance des plasmons, ici la longueur d'onde λ_{res} pour laquelle la transmission à travers la fibre est minimale et la grandeur à mesurer qui sera dans notre cas un indice de réfraction n_s , mais qui pourrait être une masse ou une épaisseur de molécules adsorbées. L'indice de réfraction, valeur normalement sans unité, sera néanmoins noté par conformité avec ce qui est fait dans la littérature, en RIU pour « Refractive Index Unit ». Ainsi la sensibilité du capteur sera égale aux valeurs de $S_{\lambda n}$ (nm /RIU) dont la définition est la suivante:

$$S_{\lambda n} = \frac{\delta \lambda_{res}}{\delta n_s} \quad [nm / RIU] \quad (I-16)$$

Cette sensibilité renseigne donc sur le déplacement de la résonance des plasmons que l'on observera pour une variation d'indice de réfraction du milieu sensible à mesurer de 1 RIU. Il est important de signaler que cette valeur est intrinsèque au transducteur et ne dépend pas ou peu des autres équipements de mesure (spectromètre, lampe,...).

b) La limite de détection ou résolution est la variation minimale du paramètre mesurée (l'indice de réfraction) que l'on sera capable de résoudre. Elle dépendra donc de la résolution spectrale qui est calculée ou estimée à partir de la résolution instrumentale liée aux équipements utilisés pour la mesure du signal. Dans notre cas, cette limite de détection dépendra essentiellement des performances du spectromètre (résolution en longueur d'onde, réponse de la CCD,...). De fait, la résolution instrumentale est fortement influencée par la précision avec laquelle la longueur d'onde de résonance est relevée.

La résolution sera aussi fortement influencée par la forme intrinsèque du signal mesuré. Notre capacité à séparer deux signaux distincts dépendra de l'amplitude du pic d'absorption et de sa largeur. En particulier, une grande largeur à mi-hauteur des bandes d'absorption obtenues avec des fibres ne permettra pas de pointer avec une grande précision la longueur d'onde de résonance.

Enfin, la résolution sera influencée par la qualité même du transducteur, en particulier de

la morphologie de la surface et de l'épaisseur de la couche métallique.

c) La gamme de fonctionnement du capteur : c'est l'intervalle d'indices de réfraction pour lequel le capteur est efficace. La gamme sera généralement comprise entre les indices de réfraction n_s de 1,33 à 1,44. Cette gamme peut paraître étroite, mais si l'on tient compte que ces capteurs sont essentiellement envisagés pour la détection en milieu aqueux de polluants ou d'espèces biologiques présentes en faible quantité, on doit alors s'attendre à travailler autour de l'indice de l'eau, à savoir 1,3335.

I-5-2 Configuration basée sur la réflexion de la lumière « Reflection-based fiber-optic » RFO

L'utilisation d'une fibre optique comme capteur à plasmon de surface a été proposée en premier (1993) par *Jorgenson* et *Yee* [37]. Ils ont simultanément étudié une structure basée sur le prisme de Kretschmann et sur une fibre optique multimodale [38]. Leur première configuration basée sur la réflexion de la lumière (reflection-based fiber-optic RFO) est constituée d'une zone sensible à l'extrémité d'une fibre optique multimodale à saut d'indice standard (i.e. PCS, Plastic Cladding Silica). Celle-ci a été dénudée puis métallisée symétriquement avec une cinquantaine de nanomètre d'argent ou d'or (figure I-11). La lumière d'une source blanche est injectée dans la fibre et subit de multiples réflexions sur la zone active où certaines longueurs d'onde sont absorbées par les ondes plasmons de surface. Un miroir disposé sur la face de sortie de la fibre réfléchit la lumière qui est ensuite traitée par un spectromètre. L'analyse spectrale permet de déterminer l'indice de réfraction de la zone proche de la surface active de la fibre. Quand l'indice augmente, le minimum de résonance se décale vers les hautes longueurs d'onde. Notons que ce montage est utilisé à l'inverse du montage conventionnel à prisme où la longueur d'onde est fixée et une interrogation angulaire est menée. Une résolution maximale comprise entre 5.10^{-4} et 5.10^{-5} RIU pour une gamme d'indices comprise entre 1,25 et 1,4 est annoncée.

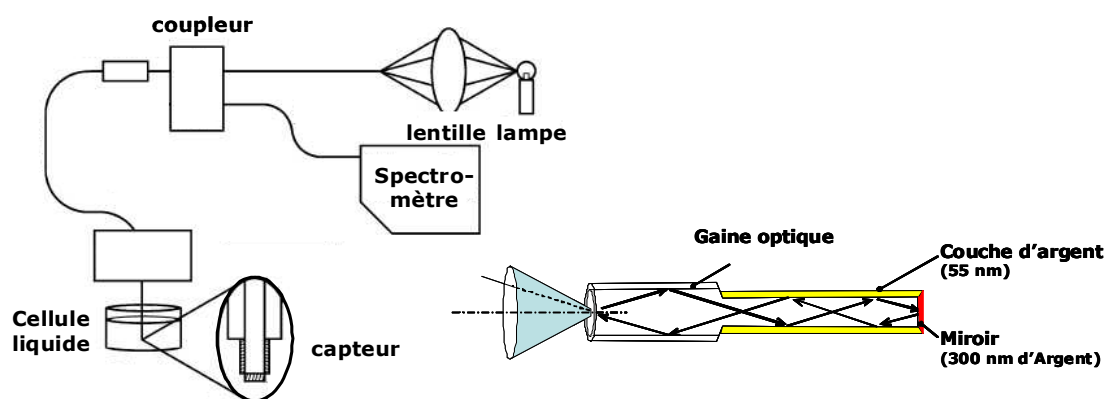


Figure I-11 : Capteur à fibre optique dont la zone sensible est située à l'extrémité de la fibre.

Des configurations similaires (figure I-12b) seront ensuite proposées par *L. Obando* and *K. Booksh* (1999) [39], *S. Watanabe* et *K. Kajikawa* (2003) [40], *K. Mitsui et al.* (2004)

[41], Y. C. Kim et al. (2005) [42] ou encore tout récemment par T. Akimoto et al. (2008) [43]. Les sensibilités mesurées pour des solutions de sucrose [40] oscillent autour de 10.000 nm/RIU et la limite de détection autour 10^{-4} RIU quelque soit la forme de l'extrémité de la sonde. Quand à T. Akimoto et al. (2008), ils mesurent des variations de signal équivalent à $1,2 \times 10^{-5}$ RIU. Une telle résolution est obtenue après traitement du bruit de fond. De plus, une limite de détection de 50 ng.ml⁻¹ est mesurée lors de l'adsorption d'un anticorps anti-BSA (Albumine de sérum bovin) sur une surface d'or traitée avec du BSA.

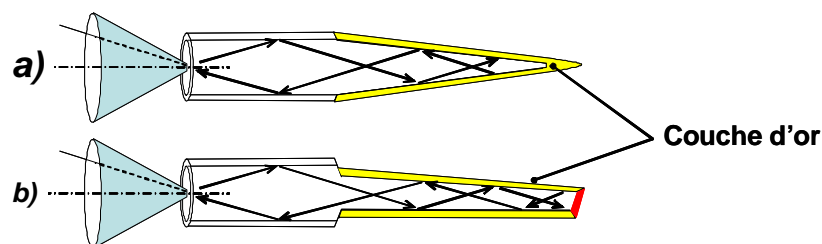


Figure I-12 : Différentes extrémités de fibres utilisées a) gravure en pointe ; b) double face.

Citons enfin le développement de capteur SPR à fibre optique utilisant des pointes coniques gravées chimiquement en extrémité (figures I-12a et I-13) [44-48]. La fabrication de ce type de CFO est basée sur la technologie des sondes de microscopes optiques en champ proche. Des résolutions avoisinant les $1,5 \times 10^{-5}$ RIU sont reportées, dans le meilleur des cas.

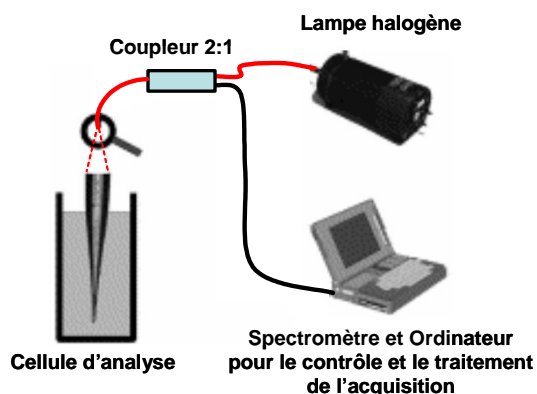


Figure I-13 : Capteur à fibre optique dont la zone sensible est une pointe conique

Les applications des capteurs dont la zone sensible est située à l'extrémité de la fibre optique sont très prometteuses mais la construction de ces CFO en réflexion (*terminated reflection-based systems*) demeure relativement lourde. Aujourd'hui, les CFO en transmission sont considérés comme les plus efficaces et les plus simples de réalisation. De ce fait, c'est la géométrie que nous avons choisie dans ce travail.

I-5-3 Configuration basée sur la transmission de la lumière « Transmission-based fiber-optic » TFO

Les configurations suivantes sont basées sur la transmission de la lumière (transmission-based fiber-optic TFO) [49-52]. Dans la première configuration, la couche métallique est placée au milieu de la fibre sur une zone dénudée de 10 mm. Dans ce cas, la lumière transmise est collectée à l'autre extrémité de la fibre (figure I-14). Ce capteur est capable de détecter la variation de l'indice du milieu entourant la zone sensible. Les sensibilités de tels systèmes avoisinent les $3,5 \times 10^3$ nm/RIU pour des limites de détection pouvant atteindre $5 \cdot 10^{-5}$ RIU selon les équipements utilisés (spectromètre en particulier), et pour une gamme d'indices comprise entre 1,2 et 1,4 RIU.

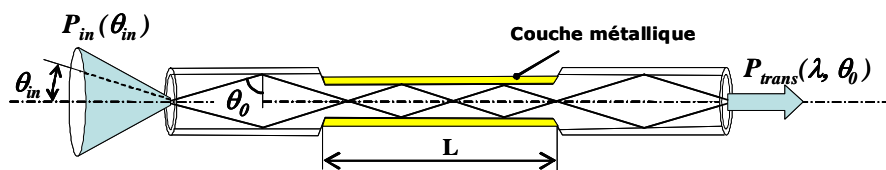


Figure I-14 : Capteur SPR à fibre optique dit aussi « biconique » où la zone de détection se situe au milieu de la fibre optique.

À partir des montages de base, diverses études ont porté sur l'optimisation de la gamme de fonctionnement du capteur ainsi que sur sa sensibilité. Par exemple, l'ajout d'une couche supplémentaire à haut indice (oxyde de zirconium d'indice 2,0 RIU) sur la couche d'argent par la méthode sol-gel a décalé la gamme de fonctionnement du capteur [53].

Signalons là que *Jorgenson* et *Yee* (2001) ont utilisé une autre approche pour augmenter la gamme de fonctionnement d'indice en employant une fibre avec un indice de cœur différent [54]. Parmi les divers types de fibres commerciales (i.e. PMMA, plastique, dopée), ils ont porté leur choix sur une fibre à cœur de saphir (d'indice 1,77), permettant une détection comprise entre 1,0 et 1,7 RIU.

Enfin une approche originale a été proposée par *A. Abdelghani* et *al.* (2001) [55]: le dispositif utilisé pour la détection de gaz est basé sur une fibre multimode dont la couche métallique est couverte par un polymère présentant une quasi-transparence à la longueur d'onde de travail et une bonne homogénéité pour minimiser la diffusion de la lumière. Lors de l'exposition aux gaz, l'indice de réfraction de ce polymère change continuellement, ce qui affecte la puissance de la lumière propagée dans la fibre.

Pour tous les capteurs présentés précédemment, la lumière blanche est focalisée sur la face d'entrée de la fibre et une analyse spectrale de l'intensité transmise où réfléchi dans la fibre donne les informations sur l'indice de réfraction du milieu extérieur. Ce type de capteur donne des résultats assez fiables. Mais il peut nécessiter un appareillage coûteux et encombrant : spectromètre et monochromateur. Une alternative utilisant la variation de la puissance lumineuse par interrogation angulaire a été proposée par *Gagnaire* et *al.* (2001) [53, 55-57]. Une fibre PCS de 600 μm de diamètre de cœur est

dénudée de quelques centimètres puis recouverte de 50 nm d'or ou d'argent. Le faisceau d'une source monochromatique (diode laser de 670 nm) est injecté dans la fibre avec différentes inclinaisons par rapport à l'axe (fig I-15).

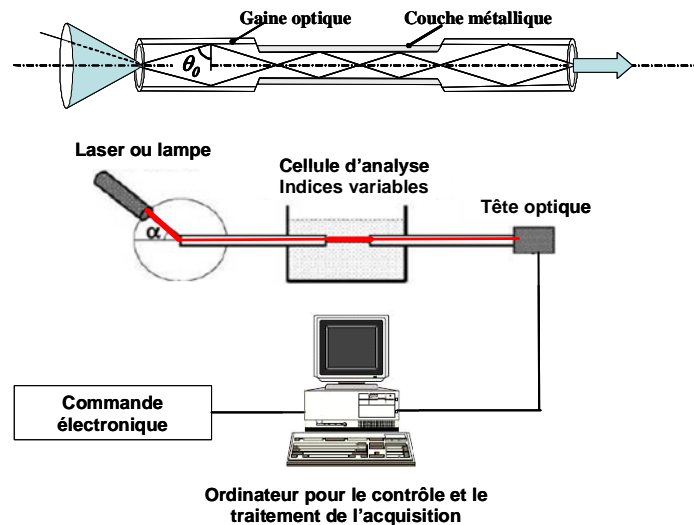


Figure I-15 : Schéma de principe d'un capteur FO-SPR fonctionnant en transmission et en interrogation angulaire.

Des rayons non méridiens se propagent alors dans la fibre. Cela produit une augmentation de l'efficacité du couplage de plasmon de surface à un indice donné du milieu extérieur. L'excitation des rayons non méridiens (cf. chapitre 2) multiplie par deux le nombre de réflexions sur la zone sensible. Ce capteur a une limite de détection inférieure à $5 \cdot 10^{-5}$ pour une gamme d'indice entre 1,355 et 1,395 RIU.

Les capteurs à couche d'argent présentent des pics de résonances plus fins que ceux fabriqués avec d'or, mais la dégradation très rapide de la qualité du dépôt d'argent rend le capteur totalement inutilisable dans un court délai (généralement une seule utilisation). Une solution pour pouvoir réutiliser la sonde plusieurs fois consiste à protéger la couche sensible du milieu environnant par une fine couche de matériau dont l'épaisseur est suffisamment fine pour minimiser les perturbations optiques. Par exemple, une monocouche de thiol de 2 nm d'épaisseur et d'indice 1,46 RIU, permet de protéger efficacement la couche d'argent ce qui a été proposé par A. Abelhani et al. en 1996 [58].

De plus, les influences de la polarisation de la lumière incidente sur la réponse du capteur ont été étudiées [59]. La polarisation de la lumière incidente a ainsi d'autant plus d'effet quand la partie sensible est proche de la face d'entrée de la fibre.

I-5-4 Fibres polies

Slavik et Homola (1995) ont développé un capteur à fibre optique monomode (825 nm) dont une partie de la gaine a été enlevée sur un côté de la fibre par polissage [60-62]. La zone polie est recouverte d'une couche d'or sur laquelle une couche diélectrique de haut indice de Ta_2O_5 est déposée (fig I-16). Une configuration avec un micro-miroir en

aluminium à l'extrémité de la fibre autorise une mesure de la lumière réfléchie à l'aide d'un coupleur à fibre 2X2. Ce système a été capable d'atteindre une sensibilité de 2300 dB/RIU et une limite de détection de $2 \cdot 10^{-5}$ RIU pour une gamme d'indice comprise entre 1,3300 et 1,3422 [63]. En interrogation spectrale, la sensibilité et la limite de détection de ce capteur, sont $3,5 \times 10^3$ nm/RIU et $5 \cdot 10^{-7}$ RIU respectivement. Ce montage permet par conséquent d'atteindre des performances identiques à celles enregistrées par un système traditionnel à prisme. Ainsi, il a été capable de détecter des concentrations aussi faibles que 40ng/ml pour l'IgG [64] et 4 ng/ml pour le SEB (*Staphylococcal enterotoxin B*) [65].

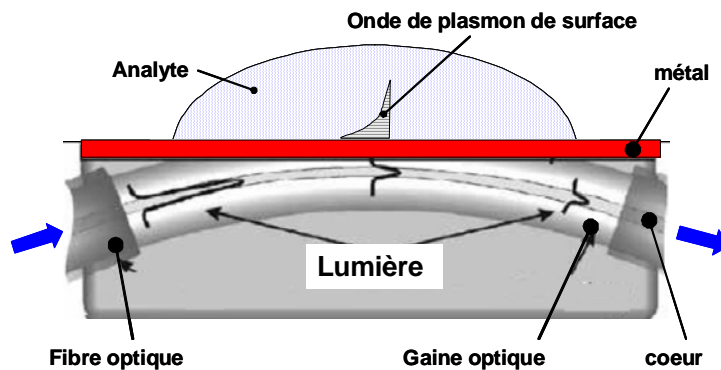


Figure I-16 : Illustration d'un capteur FO-SPR présentant une zone sensible polie sur un côté de la fibre optique.

Fibres polies « type-D »

Chiu et al. (2005) ont développé un capteur à fibre optique de type-D (figure I-17) [66-67]. La couche métallique est, ici, déposée sur une face du cœur d'une fibre optique. Cette configuration est une adaptation du précédent capteur développé par Slavik et Homola. La sensibilité du capteur dépend de l'angle d'incidence ainsi que de l'épaisseur de la couche métallique (en modulation d'intensité). Ce capteur a été capable d'atteindre une sensibilité de 40 (1/RIU) et une limite de détection de $2,5 \cdot 10^{-5}$ RIU pour un angle d'incidence de 89° et une gamme d'indice comprise entre 1,33 et 1,40 RIU. Une sélection de l'épaisseur du métal pour un indice correspondant peut améliorer la sensibilité de ce système.

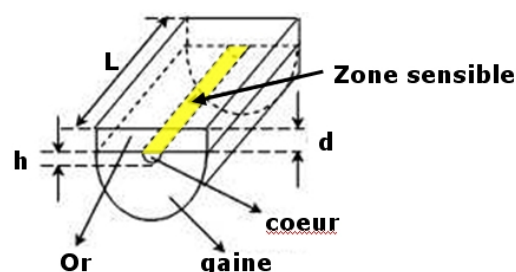


Figure I-17 : Capteur FO-SPR présentant une zone sensible polie sur un côté de la fibre optique, proposé par Chiu et al [66-67].

I-5-5 Fibres effilées

Un capteur constitué d'une fibre effilée recouverte d'une couche métallique (Ag ou Au) a été étudié pour la première fois par *Tubb et al.* (1997) [68]. La fibre monomode (709 nm) est effilée de 125 μm à 6 μm par chauffage. Une couche d'argent ou d'or est ensuite déposée. Dans ce cas, l'indice effectif de l'onde optique propagée subit une variation lors de la propagation dans la zone amincie. De plus, l'indice effectif de l'onde plasmon dépend de l'épaisseur du métal qui n'est pas homogène le long de la zone active. Ce capteur est capable d'atteindre une limite de détection de 5.10^{-4} RIU à 740 nm.

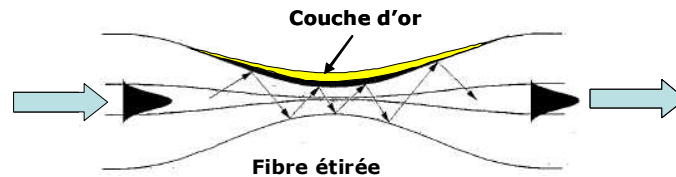


Figure I-18 : Capteur FO-SPR présentant une zone effilée proposé par *Tubb et al* [68].

Cette valeur est relativement faible comparée aux systèmes basés sur la configuration du prisme (de l'ordre de 10^{-7}) mais le capteur à fibre optique effilée présente l'avantage de pouvoir contrôler le diamètre comme un paramètre ajustable de la sensibilité [69].

Dans la même idée, l'analyse dans un composant asymétrique de la réponse spectrale ainsi que de la modulation d'intensité pour une variation de l'indice ont été menées par *Monzon-Hernandez et al.* (fig I-19) et *Bueno et al.* (2004) [70-71]. Le caractère asymétrique du dispositif entraîne la perte de la dégénération en polarisation de l'onde plasmon. D'autre part, des modes hybrides du plasmon sont excités ce qui rend l'exploitation et l'interprétation des résultats très complexes. Tout cela se traduit par l'apparition de plusieurs pics et de la très forte dépendance en polarisation du spectre transmis. Néanmoins, la prise en compte de ces nouvelles caractéristiques permet d'obtenir, d'après les auteurs, une limite de détection excellente avoisinant les 7.10^{-7} RIU [69,70].

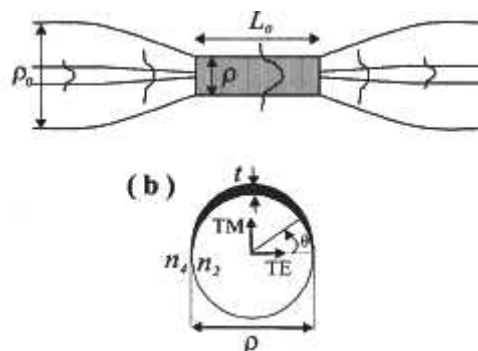


Figure I-19 : FO-SPR présentant une zone métallisée asymétrique, proposé par *Monzon et al* [70].

I-5-6 Fibres dites « hétéro-cœur »

Une nouvelle approche de fibre optique de structure hétéro-cœur a été présentée par *Iga et al.* (2004) [72]. Elle consiste à souder deux fibres monomodes de diamètres différents par une fusion thermique. La lumière réfléchi sur le bord interne de la gaine de la fibre excite le plasmon de surface dans la couche métallique déposée sur la gaine externe. Le seul avantage de ce montage est sa simplicité de fabrication. La gaine a été utilisée comme une couche sensible. Des sensibilités qui varient entre $4,8 \cdot 10^3$ et $6,7 \cdot 10^3$ sont obtenues pour les indices 1,333 et 1,398 respectivement. Ces valeurs de sensibilité sont tout à fait comparables avec les autres systèmes traditionnels basés sur le prisme ou avec une fibre optique. La limite de détection n'a, par contre, pas été évaluée.

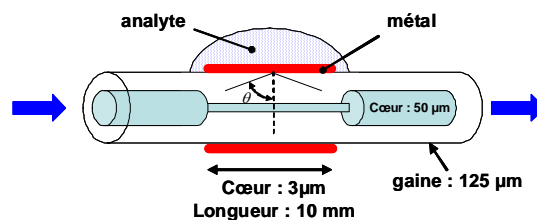


Figure I-20 : Illustration d'un capteur « hétéro-cœur » formé par le soudage de trois fibres optiques de même diamètre de gaine ayant un diamètre de cœur différent, présentée par *Iga et al* [72].

I-5-7 Capteur FO à base de nanoparticules d'or

Un capteur basé sur l'excitation de plasmon à partir de billes d'or est proposé pour la première fois par *Mariaudeau et al.* (2000) [73]. Un film d'or de 4 nm est déposé par évaporation sur la zone dénudée d'une fibre multimode en rotation. Ensuite, un échauffement du film à quelques centaines de degrés regroupe les atomes d'or en sphéroïdes plus ou moins sphériques suivant la température. Une couche de MgF_2 d'indice voisin de celui de la gaine déposée sur les îlots d'or empêche la réfraction de la lumière à des indices supérieurs de celui du cœur (d'indice 1,46). La gamme de fonctionnement est comprise entre 1,0 et 1,7 RIU. Si cette gamme d'indice est très importante, la limite de détection du capteur semble très faible. Une amélioration substantielle de la sensibilité est attendue en optimisant la forme et la densité des particules de métal à la surface de la fibre.

Finalement, l'application de la résonance des plasmons localisés dans le domaine du capteur et biocapteur est très récente. La configuration est basée sur l'excitation de plasmon de surface à partir non plus d'un film métallique mais plutôt de nanoparticules d'or (ou d'argent). Lorsque la fréquence de la lumière incidente est proche de la fréquence de résonance des plasmons localisés, les photons incidents sont absorbés. La réponse du capteur dépend de la taille, de la forme des particules ainsi que des caractéristiques propres.

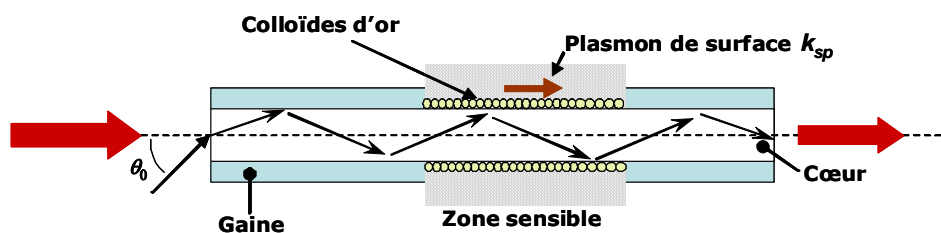


Figure I-21: Principe du capteur LSPR (*localised surface plasmon resonance*) réalisé à partir du greffage de colloïdes d'or ou d'argent sur la zone sensible.

Chau *et al.* (2003) ont montré que l'utilisation de nanoparticules offre trois avantages pour les capteurs à fibre optique [74-75]: une réponse plus rapide en temps réel, une petite taille de pixel donc une grande capacité d'enregistrement de détection et une augmentation du signal de la diffusion Raman exalté [76]. Grâce à ces avantages, les capteurs à fibre optique basés sur les nanoparticules sont utilisés pour surveiller les interactions biomoléculaires. Une limite de détection remarquable de $9,8 \cdot 10^{-11} \text{M}$ (mol.L^{-1}) pour la streptavidine est annoncée lors de la fonctionnalisation de nanoparticules d'or avec la biotine.

I-6 CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons brièvement rappelé l'origine des plasmons de surface et nous avons défini quelques unes de leurs propriétés à partir des principales formules analytiques que nous reprendrons au chapitre II. Les courbes de dispersion $k-\omega$ ont été introduites afin de mettre en évidence le caractère dit « non radiatif » des plasmons de surface. Ceci nous a permis de décrire comment Otto puis Kretschmann et Raether ont réussi à contourner le caractère non radiatif des plasmons de surface et ainsi les coupler avec la lumière. Nous décrivons alors ce qu'il est commun d'appeler les conditions de couplage lumière-Plasmon-polariton de surface.

Dans une seconde partie, nous présentons de façon rapide et non exhaustive quelques applications en recherche et dans l'industrie, exploitant les propriétés des plasmons de surface. Les guides d'ondes, la microscopie optique en champ proche (SNOM), le Raman exalté de surface (SERS) sont ainsi brièvement présentés, avant de terminer par la présentation de la détection de molécules chimiques et biologiques par la technique dite de résonance des plasmons de surface, encore appelée « SPR ». La configuration conventionnelle basée sur la réflexion totale de la lumière dans un prisme (configuration de Kretschmann-Raether) est décrite plus précisément, et cette méthode est comparée à sa principale concurrente, la spectroscopie de fluorescence. Enfin, nous justifions l'importance de la microfluidique pour augmenter la rapidité et la fiabilité de la méthode SPR.

Nous terminons ce chapitre par un état de l'art sur les capteurs SPR à fibre optique, encore nommés FO-SPR. Nous présentons les différentes configurations que l'on peut rencontrer dans la littérature, en tentant de rappeler les sensibilités et limites de détection quand elles étaient rapportées dans les publications. Cet état de l'art fait

apparaître que les études paramétriques expérimentales et les simulations numériques de réponses SPR sont deux approches particulièrement intéressantes et complémentaires. D'ores et déjà, plusieurs études expérimentales ont porté sur l'optimisation des performances du capteur. Des travaux sur la réalisation de capteurs miniatures à fibre optique sont aussi réalisés. D'autres études encore, théoriques et expérimentales ont été menées sur la sensibilité des capteurs *SPR* à fibre optique sous différents formes.

Cependant, il apparaît que les performances de ces capteurs ne sont pas encore bien établies ni prouvées. Il est toujours difficile de comparer la performance de ces capteurs car la manière dont sont définis les paramètres caractéristiques varie dans les différents travaux publiés. À partir de ces résultats, il est de plus impossible de prendre en compte toutes les combinaisons possibles entre les différents paramètres (par exemple la nature des molécules à détecter, la méthode d'interrogation, les équipements utilisés etc.). De plus, si des études expérimentales et théoriques ont été menées parallèlement, nous ne trouvons pas dans la littérature de réelles confrontations de ces résultats. De même, à notre connaissance, aucune de ces études n'a été menée sur l'influence de la rugosité de surface sur la réponse du capteur, ce dernier effet étant pourtant connu pour jouer un rôle important dans les propriétés de propagation et de résonance des plasmons de surface. La plupart des modèles théoriques traitant du phénomène de résonance des plasmons de surface dans la configuration fibre optique considère une surface métallisée infiniment lisse, ce qui reste loin d'une configuration réelle.

Ainsi, malgré les nombreux avantages de la technique SPR, il n'existe pas actuellement de dispositifs à fibre optique fiables, bon marché pouvant concurrencer les dispositifs classiques à prisme. Pour avoir un capteur *SPR* à fibre optique performant et compétitif, il est donc nécessaire d'améliorer sa sensibilité et sa limite de détection. Ces deux caractéristiques de performance dépendent de la géométrie de la fibre ainsi que des paramètres clés influençant la réponse du capteur. Dans ce travail, nous proposons donc une étude comparative entre la réponse expérimentale et numérique d'un capteur SPR à fibre optique, afin de déterminer les conditions optimales du capteur à fibre optique dans un environnement réel. Comme nous le verrons, la confrontation directe entre les expériences et les modélisations nous amènera à prendre en considération la rugosité de surface et la permittivité diélectrique complexe des couches ultraminces d'or.

Bibliographie

- [1] R.W. Wood. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. *Philos.* 4 (1902) 396–402.
- [2] U. Fano. Zur theorie der intensitätsanomalien der beugung. *Ann. Phys.*, (1938), 32(5) 393–443.
- [3] A. Hessel and A.A. Oliner. A new theory of wood's anomalies on optical gratings. *Applied Optics*, 10 (1965) 1275–1297.
- [4] A. Otto, Excitation of nonradiative surface plasma waves by the method of frustrated total reflection, *Z. Physik*, 216 (1968) 398.
- [5] E. Kretschmann, H. Raether, Radiative decay of non radiative Surface plasmons Excited by light, *Z. Naturforsch*, 23 a (1968) 2135–2136.
- [6] H. Raether, surfaces plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, (1988) 4–16.
- [7] H. Raether, surfaces plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, (1988) 40–117.
- [8] Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy, by Ricardo Aroca, Wiley, Chichester, (2006).
- [9] Frédérique de Fornel, Les ondes évanescentes en optique et en optoélectronique, édité chez Eyrolles (1999).
- [10] W. Barnes, A. Dereux, T. Ebbesen, Surface plasmon subwavelength optics, *Nature* 424 (2003) 824–830.
- [11] Daniel Courjon et Claudine Bainier, Le Champ proche optique : Théorie et applications, édité chez Springer (2001).
- [12] J.M. Kim, T. Ohtani, S. Sugiyama, T. Hirose and H. Muramatsu, Simultaneous topographic and fluorescence imaging of single DNA Molecules for DNA analysis with a Scanning Near-Field Optical/Atomic Force Microscope, *Anal. Chem.* 73 (2001) 598.
- [13] A. Kelch, S. Wessel, T. Will, U. Hintze, R. Wepf and R. Wiesendanger, Penetration pathways of fluorescent dyes in human hair fibres investigated by scanning near-field, *journal of microscopy* **200** (2000) 179–186.
- [14] N.F. van Hulst, J.A. Veerman, M.F. Garcia-Parajo and L. Kuipers, Analysis of individual (macro) molecules and proteins using near-field optics, *J. Chem. Phys.* **112** (2000), 7799.
- [15] R.X. Bian, R.C. Dunn, X. S. Xie, P. T Leung, Single Molecule Emission Characteristics in Near-Field Microscopy, *Phys. Rev. Lett.* 75 (1995) 4772.
- [16] S. Collin, F. Pardo, J.L. Pelouard, Nanostructures métalliques pour applications photoniques, CNTS/LPN, 2003–2004.
- [17] www.bulletins-electroniques.com/actualites/42862.htm (dernière visite du site 5/03/2008).
- [18] K. Kneipp, M. Moskovits, H. Kneipp, Surface-enhanced Raman Scattering: Physics And Applications, Springer-Verlag (août 2006).
- [19] X. Liu, D. Song, Q. Zhang, Y. Tian, L. Ding and H. Zhang, Wavelength- modulation surface plasmon resonance sensor, *Analytical Chemistry*, (2005), 24(10), 887.
- [20] J. Homola, S.S. Yee, G. Gauglitz, Surface plasmon resonance sensors : Review, *Sensors and Actuators B*, 54 (1999) 3–15.
- [21] F. W. Scheller, U. Wollenberger, A. Warsinke et F. Lisdat, Research and development in biosensors, *Curr. Opin. Biotechnol.* 12 (2001) 35–40.

- [22] P. D'orazio, Biosensors in clinical chemistry, *Clin. Chim. Acta*, 334(2003)41-69.
- [23] K.R. Rogers, Principe of affinity-based biosensors, *Mol. Biotechnology* 14 (2004) 109-129.
- [24] S. Rodriguez-Mozaz, M.P Marco, M.J. Lopez De Alda et D. Bercalo, Biosensors for environmental monitoring of endocrine disruptors : a review article, *Anal. Bioanal. Chem.* 378(2004)588-598.
- [25] J. Homola, present and future of surface plasmon resonance biosensors, *Anal bioanal Chem* 377 (2003) 528-539.
- [26] Société Biacore, www.biacore.com (dernière visite du site 5/03/2008).
- [27] J. Spadavecchia, M.G. Manera, F. Quaranta, P. Siciliano, R. Rella : Surface Plasmon resonance imaging of DNA based biosensors for potential applications in food analysis, *Biosensor and bioelectronics* 21 (2005) 894-900.
- [28] W.M. Mullet, E.P. Lai, J.M. Yeung, surface plasmon resonance-based immunoassays, *Methods*, 22 (2000) 77-91.
- [29] T. Natsume, H. Nakayama, T. Isobe, BIA-MS-MS: biomolecular interaction analysis for functional proteomics, *Trends Biotechnol.* 19 (2001) 28-33.
- [30] J.S. Yuk, k.S. Ha, proteomie applications of surface Plasmon resonance biosensors: analysis of protein arrays, *Exp. Mol. Med.* 37 (2005) 1-10.
- [31] S. Lofas, Optimizing the hig-t-lead process using SPR analysis, *Assay Drug. Dev. Technol.* 2 (2004) 407-15.
- [32] C.A Marquette, D. Thomas, A. Degiuli, et L.J.Blum : Design of luminescent biochips based on enzyme, antibody, or DNA composite layers, *Anal. Bioanal. Chem* 377 (2003) 922-928.
- [33] M.L. Calvo-Munoz, A. Dupont-Filliard, M. Billon, S. Guillerez, G. Bidan, C.A Marquette et L.J.Blum : Detection of DNA hybridization by ABEI electrochemiluminescence in DNA-chip compatible assembly, *Bioelectrochemistry* 66 (2005) 139-143.
- [34] D. Erickson and D. Q. Li: Integrated microfluidic devices, *Analytica Chimica Acta*, 507 (2004)11-26.
- [35] K-H. Lee, Y-D Su, S-J. Chen, F-G. Tseng, G-B. Lee: Microfluidic systems integrated with two-dimensional surface Plasmon resonance phase imaging systems for microarray immunoassay, *Biosensors and Bioelectronics* 23 (2007) 466-472.
- [36] Optical fiber sensor technology, devices and applications, vol 2, Edité par L.S. Grattan et B.T. Meggitt, Springer 1997.
- [37] R.C. Jorgenson, S.S. Yee : A fiber-optic chemical sensor based on surface plasmon resonance, *sens. Actuators*, B 12 (1993) 213-220.
- [38] R.C. Jorgenson: Surface Plasmon resonance based bulk optic and fiber optic sensors, Ph.D. Dissertation, University of Washington, Seattle, WA, USA, (1993).
- [39] L. Obando and K. Booksh, Tuning Dynamic Range and Sensitivity of White-Light, Multimode, Fiber-Optic Surface Plasmon Resonance Sensors, *Analytical Chemistry* 71 (1999) 5116-5122.
- [40] S. Watanabe et K. Kajikawa, An optical fiber biosensor based on anomalous reflexion of gold *Sens. Actuators B* 89(2003)126.
- [41] K. Mitsui, Y. Handa and K. Kajikawa, Optical fiber affinity biosensor based on localized surface plasmon resonance, *Appl. Phys. Lett.* 85 (2004) 4231.
- [42] Y. C. Kim, W. Peng, S. Banerji, K.S. Booksh, Tapered fiber optic surface plasmon resonance sensor for analyses of vapor and liquid phases *Opt. Lett.* 30 (2005) 2218.
- [43] T. Akimoto, S. Wada, I. Karube, A surface plasmon resonance probe without optical fibers as a portable sensing device, *analytica chimica acta* 610 (2008) 119–124.
- [44] B. Grunwald, G. Holst, Fibre optic refractive index microsensor based on white-light

SPR excitation Sensors and Actuators A 113 (2004) 174-180.

[45] K. Kurihara, H. Ohkawa, Y. Iwazaki, O. Niwa, T. Tobita, K. Suzuki, Fiber-optic conical microsensors for surface plasmon resonance using chemically etched single-mode fiber Anal. Chim. Acta 523 (2004) 165.

[46] Y.-J. Chang, Y.-C. Chen, H.-L. Kuo, P.-K. Wei, Nanofiber optic sensor based on the excitation of surface plasmon wave near fiber tip, J. Biomed. Optics 11 (2006) 014032.

[47] M. Chaigneau, K. Balaa, T. Minea, and G. Louarn, Plasmon resonance micro-sensor for droplets analysis Optic Letters 32 (2007) 2435-2437.

[48] T. Abrahamyan, Kh. Nerkararyan, Surface plasmon resonance on vicinity of gold-coated fiber tip, Physics Letters A 364 (2007) 494-496.

[49] M. Mitsushio, K. Miyashita and M. Higo, Sensor properties and surface characterization of the metal-deposited SPR optical fiber sensors with Au, Ag, Cu, and Al, Sens. Actuators A 125 (2006) 296.

[50] M. Kanso, S. Cuenot, and G. Louarn, Roughness effect on the SPR measurements for an optical fibre configuration: experimental and numerical approaches, J. Opt. A: Pure Appl. Opt. 9 (2007) 586-592.

[51] K. Balaa, M. Kanso, S. Cuenot, T. Minea, G. Louarn, Experimental realization and numerical simulation of wavelength-modulated fiber optic sensor based on surface plasmon resonance – SPR, Sensors and Actuators B: Chemical 126 (2007) 198-203.

[52] M. Kanso, S. Cuenot, and G. Louarn Sensitivity of fibre optic sensor based on surface plasmon resonance : comparison between modeling and experiments, Plasmonics 3(2) (2008).

[53] W.B. Lin, M. Larcoix, J.M. Chovelon, N. Jaffrezic-Renault and H. Gagnaire, Development of a fiber-optic sensor based on surface Plasmon resonance on silver film for monitoring aqueous media, sensors and Actuators B 75(2001) 203-209.

[54] R. C. Jorgenson and S.S. Yee: Control of the dynamic range and sensitivity of a surface plasmon resonance, Sensors and Actuators B 72 (2001) 1-10.

[55] A. Abdelghani, N. Jaffrezic-Renault, SPR fibre sensor sensitized by fluorosiloxane polymers, sensors and Actuators B 74 (2001) 117-123.

[56] A. Trouillet, C. Ronot-Trioli, C. Veillas, H. Gagnaire, Chemical sensing by surface plasmon resonance in a multimode optical fiber, Pure and Applied Optics 5 (1996) 227-237.

[57] C. Ronot-Trioli, A. Trouillet, C. Vaillas, Fiber optic chemical sensor based on surface plasmon monochromatic excitation, analytica chimica Acta 319 (1996) 121-127.

[58] A. Abdelghani, J.M. Chovelon, J.M. Krafft, N. Jaffrezic-Renault, A. Trouillet, C. Veillas, C. Ronot-Trioli and H. Gagnaire, Study of self-assembled monolayers of n-alkanethiol on a surface Plasmon resonance fibre optic sensor, Thin solid films, 284-285 (1996), 157-161.

[59] W.B. Lin, N. Jaffrezic-Renault, A. Gagnaire, and H. Gagnaire, The effects of polarization of the incident light-modeling and analysis of a SPR multimode optical fiber sensor, Sensors and Actuators A 84 (2000) 198-204.

[60] J. Homola and R. Salavik, Fibre- optic sensor based on surface Plasmon resonance, Electron. Lett, 32 (1996) 480-482.

[61] J. Homola, Optical fiber sensor based on surface plasmon excitation, Sensors and Actuators B 29 (1995) 401-405.

[62] M. Piliarik, J. Homola, Z. Maníková, J. Čtyrský, Surface plasmon resonance sensor based on a single-mode polarization-maintaining optical fiber, Sensors and Actuators B 90 (2003) 236-242.

[63] R. Slavik, J. Homola, and J. Čtyrský, Single-mode optical fiber surface Plasmon resonance sensor, Sensors and Actuators B 54 (1999) 74-79.

- [64] R. Slavik, J. Homola, and J. Ctyriky and E. Brynda, Novel spectral fiber optic sensor based on surface Plasmon resonance, Novel spectral fiber optic sensor based on surface Plasmon resonance, *Sensors and Actuators B* 74 (2001) 106-111.
- [65] R. Slavik, J. Homola and Eduard Brynda, Aminiature fiber optic surface Plasmon resonance sensor for fast detection of staphylococcal enterotoxin B, *Biosensors and bioelectronics* 17 (2002) 591-595.
- [66] S.F. Wang, M.H. Chiu, J.C. Hsu, RS. Chang et F.T. Wan, Theoretical analysis and experimental evaluation of D-type optical fiber sensor with a thin gold film, *Opt. commun.* 253 (2005) 283-289.
- [67] M. H. Chiu, C. H. Shih and M. H. Chi, Optimum sensitivity of single mode D-type optical fiber sensor in the intensity measurment, *Sensors and Actuators B* 123 (2007) 1120-1124.
- [68] A.J. Tubb, F.P. Payne, R.B. Millington and C.R. Lowe, Single-mode optical fibre surface plasma wave chemical sensor, *Sensors and Actuators*, B41 (1997) 71-79.
- [69] J. Villatoro, D. Monzon-Hernandez and E.Meja, Fabrication and modelling of uniform-waist single-mode tapered optical fiber sensors, *Applied optics*, 42(2003) 2278-2283.
- [70] D. Monzon-Hernandez, J. Villatoro, D. Talavera and D. Luna-Moreno, Optical-fiber surface-plasmon resonance sensor with multiple resonance peaks, *Applied optics*, 43 (2004) 1216-1220.
- [71] F. J. Bueno, O. Esteban, N. Diaz-Herrera, Sensing properties of asymmetric double-layer-covered tapered fibers, *Applied optics*, 43 (2004) 1615-1620.
- [72] M. Iga, A. Seki and K. Watanabe, Hetero-core structured fiber optic surface Plasmon resonance sensor with silver film, *Sensors and Actuators B* 101(2004) 368-372.
- [73] F. Meriaudeau, A. Wig, A. Passian, T.Downey, M.Buncick and T.L. Ferell, Gold island fiber optic sensor for refractive index sensing, *Sensors and Actuators B* 69 (2000) 51-57.
- [74] L.K. Chau, Y.F. Lin, S.F. Cheng, et T.J. Lin, fiber-optic chemical and biochemical probes based on localized surface Plasmon resonance, *Sensors and actuators B* 113 (2006) 124-131.
- [75] S.-F. Cheng and L.-K. Chau, Colloidal Gold-Modified Optical Fiber for Chemical and Biochemical Sensing, *Anal. Chem.* 75 (2003)16-21.
- [76] M. D. Malinsky, K.L. Kelly, G.C. Schatz an R.P. Van Duyne : Chain length dependence and sensing capabilites of the localized surface Plasmon resonance of silver nanoparticles chemically modified with alkanethiol self-assembled monolayers, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 1471-1482.

CAPTEUR SPR À FIBRE OPTIQUE : APPROCHE NUMÉRIQUE

II-1 Introduction	43
II-2 Résonance des plasmons de surface : configuration de <i>Kretschmann</i>	43
II-2-1 Interrogation angulaire : réflectivité et coefficients de Fresnel	43
II-2-2 Approximation de <i>Kretschmann-Raether</i>	46
II-2-3 Approximation de <i>Kurihara</i>	49
II-2-4 Interrogation spectrale : modèle de Fresnel	51
II-3 Propriétés générales des fibres optiques	52
II-3-1 Structure d'une fibre optique	52
II-3-2 Guidage de la lumière dans une fibre optique	54
II-4 Résonance des plasmons de surface dans une fibre optique (FO)	55
II-4-1 Calcul de la réflectivité dans une fibre optique	55
II-4-2 Calcul de la puissance transmise par une fibre	58
II-5 Propriétés optiques des différents milieux	61
II-5-1 Dispersion chromatique de la silice	61
II-5-2 Fonction diélectrique d'un métal noble	62
II-5-3 Permittivité optique du milieu diélectrique	69
II-6 Conclusion	71
Bibliographie	72

II-1 Introduction

Ce chapitre est consacré au développement du modèle numérique que nous utiliserons pour étudier, dans les chapitres III et IV, la réponse d'un capteur chimique basé sur la résonance des plasmons de surface. Le code écrit sous le logiciel Matlab7 consiste à prendre en compte le calcul de la réflectivité de la lumière à l'interface entre la silice et une série de couches minces de nature très différente: métal, couche organique (ligand) et milieu à sonder (analyte). Nous commencerons par étudier la configuration dite de *Kretschmann-Raether*, basée sur l'utilisation d'un prisme comme coupleur (configuration ATR). Ce travail préalable à l'analyse en configuration fibre optique s'est avéré indispensable afin de déterminer le modèle mathématique le plus adapté à nos objectifs. Ce travail permettra aussi de poser les bases du problème à résoudre, et de définir précisément les paramètres influençant la réponse SPR.

Pour la modélisation du capteur en configuration fibre optique, nous avons choisi de passer par la résolution des matrices dites de transfert pour un système de N couches. Nous avons dû adapter cette théorie largement validée pour le calcul des filtres optiques (couches antireflets, filtres de Notch,...). Pour cela nous avons dû tenir compte de la géométrie cylindrique dans la modélisation de la puissance transmise par une fibre capteur. Il a aussi été nécessaire de prendre en compte des caractéristiques telles que l'ouverture numérique du système, la longueur et le diamètre au niveau de la zone sensible, la nature du métal et les différents indices de réfraction des matériaux mis en jeu. Ceci nous a conduit à reprendre des mesures par ellipsométrie de la fonction diélectrique de l'or et de l'argent, puis de les modéliser en prenant compte des contributions inter-bandes négligées dans le modèle simple de Drude (transitions hybrides).

II-2 Résonance des plasmons de surface : configuration de Kretschmann-Raether

II-2-1 Interrogation angulaire : réflectivité et coefficients de Fresnel

Nous avons montré au chapitre I qu'une onde évanescence de vecteur d'onde \mathbf{k} , peut induire une résonance à l'interface métal/diélectrique, si la projection de \mathbf{k} selon x s'ajuste au vecteur d'onde des plasmons de surface présents à cette interface. Une conséquence énergétique de cette résonance est observée par la chute de l'intensité lumineuse réfléchie. Cette observation expérimentale peut tout à fait se prévoir à partir des coefficients de Fresnel. En effet, pour un système à 3 couches (diélectrique 1/métal/diélectrique 2, figure II-1), si on note E_i et E_r , les amplitudes des champs électriques, respectivement de l'onde incidente et de l'onde réfléchie et d l'épaisseur du film métallique, l'expression de la réflectivité donnée par les équations de Fresnel pour 3 couches s'exprime de la façon suivante [1]:

$$R = \left| \frac{E_r}{E_i} \right|^2 = \left| \frac{r_{pm} + r_{ms} \exp(2ik_{mz}d)}{1 + r_{pm}r_{ms} \exp(2ik_{mz}d)} \right|^2 \quad (\text{II-1})$$

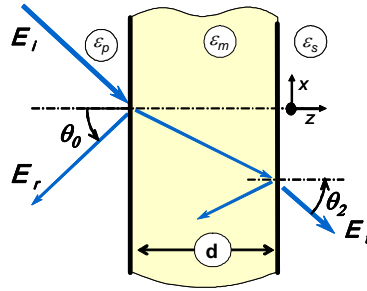


Figure II-1 : Réflexion et réfraction de la lumière dans une couche mince.

où r_{pm} et r_{ms} sont les coefficients de réflexion correspondant au rapport des flux d'énergie aux deux interfaces (diélectrique1/métal) et (métal/diélectrique2), respectivement. Les formules de Fresnel donnent pour les polarisations **-p** et **-s** (figure II-2), l'expression des rapports r en fonction des permittivités et des vecteurs d'onde dans les milieux séparés :

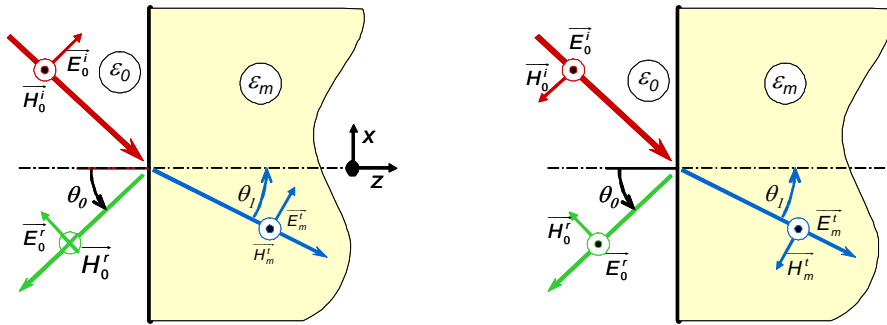


Figure II-2 : Représentation des champs électromagnétiques incidents (*i*), réfléchis(*r*) et transmis (*m*) à une interface plane séparant deux milieux différents : (gauche) suivant la polarisation **-p**, (droite) suivant la polarisation **-s**

Pour une onde de polarisation **-p** (TM transverse magnétique) :

$$r_{pm}^p = \frac{k_{pz}\epsilon_m - k_{mz}\epsilon_p}{k_{pz}\epsilon_m + k_{mz}\epsilon_p} \quad (\text{II-2})$$

et

$$r_{ms}^p = \frac{k_{mz}\epsilon_s - k_{sz}\epsilon_m}{k_{mz}\epsilon_s + k_{sz}\epsilon_m} \quad (\text{II-3})$$

Pour une onde de polarisation **-s** (TE transverse électrique) :

$$r_{pm}^s = \frac{k_{pz} - k_{mz}}{k_{pz} + k_{mz}} \quad (\text{II-4})$$

et

$$r_{ms}^s = \frac{k_{mz} - k_{sz}}{k_{mz} + k_{sz}} \quad (\text{II-5})$$

avec

$$k_{jz} = \left(\epsilon_j \frac{\omega^2}{c^2} - k_x^2 \right)^{1/2} \quad (\text{II-6})$$

pour $j = p, m, s$ et $k_x = \sqrt{\epsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta$, $\omega = \frac{2\pi c}{\lambda}$

Le milieu diélectrique 1, la couche métallique et le milieu diélectrique 2 sont dénotés par les lettres **p**, **m** et **s**, respectivement ; ϵ_j est la constante (fonction) diélectrique du milieu j , k_{jz} est la composante de vecteur d'onde perpendiculaire à l'interface du milieu, k_x est la composante tangentielle du vecteur d'onde incidente, ω est la fréquence angulaire de la lumière incidente et c est la célérité de la lumière. La constante diélectrique du milieu diélectrique 1 est donnée par :

$$\epsilon_p = n_p^2 \quad (\text{II-7})$$

où n_p est l'indice de réfraction du matériau constituant le diélectrique 1.

Avec une polarisation **-s**, les coefficients de réflexion ne peuvent pas diverger (équation II-4 et II-5). Par contre en polarisation-**p**, le dénominateur de r_{ms} (équation II-3) peut s'annuler si :

$$\frac{k_{mz}}{\epsilon_m} + \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} = 0 \quad (\text{II-8})$$

Ce qui correspond exactement à la condition d'existence du mode propre du plasmon de la surface au voisinage de l'interface métal/diélectrique, (voir Annexe). Notre système sera exalté si les composantes normales des vecteurs d'onde k_{mz} et k_{sz} sont imaginaires (cf Chapitre 1), ce qui traduit que cette exaltation ne pourra avoir lieu que pour des ondes évanescentes. Si la constante diélectrique du métal est complexe, les coefficients de Fresnel ne divergent pas à l'infini, mais conduisent à une absorption résonante. L'effet d'exaltation sera donc plus important dans les métaux nobles dont la partie imaginaire ϵ_2 de la fonction diélectrique ($\epsilon = \epsilon_1 + i\epsilon_2$) est faible.

Une conséquence importante de ceci est qu'un faisceau lumineux de polarisation-**s** n'entraînera pas une oscillation des charges à l'interface m/s. Il n'y aura pas d'excitation des plasmons de surface pour cette polarisation. Au contraire, une onde **-p** évanescence arrivant à l'interface diélectrique/métal, se décomposera dans ce dernier milieu en une onde transverse et une autre longitudinale. Cette composante longitudinale de l'onde dans le métal va alors créer un potentiel vecteur longitudinal qui va pouvoir se coupler aux oscillations de densité de charges superficielles ou plasmons de surface [2].

Cette situation fut mise à profit expérimentalement par *Otto* et *Kretschmann* en utilisant un prisme (diélectrique 1) pour générer des ondes évanescentes par réflexion totale sur la couche métallique (figure II-3).

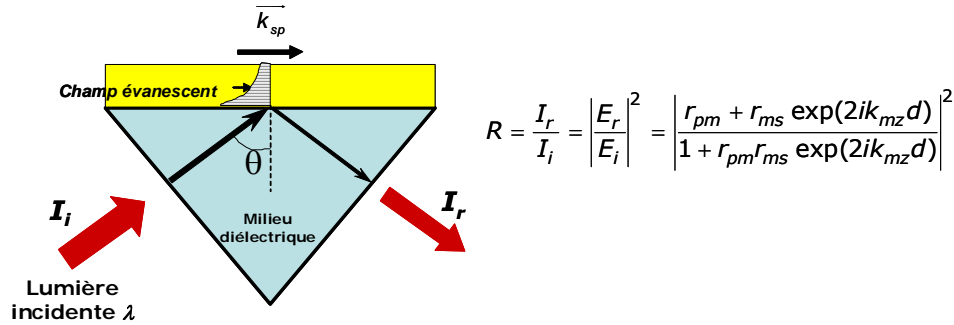


Figure II-3 : Illustration du couplage par prisme, configuration de Kretschmann.

La figure II-4 représente les courbes de réflectivité d'une onde lumineuse de longueur d'onde 600 nm calculé dans la configuration de *Kretschmann-Raether*, en utilisant l'expression de la réflectivité donnée par les équations de Fresnel (équation II-1). Ces courbes illustrent bien la résonance des plasmons de surface et la dépendance du minimum de la réflexion avec l'indice du milieu 2 (analyte).

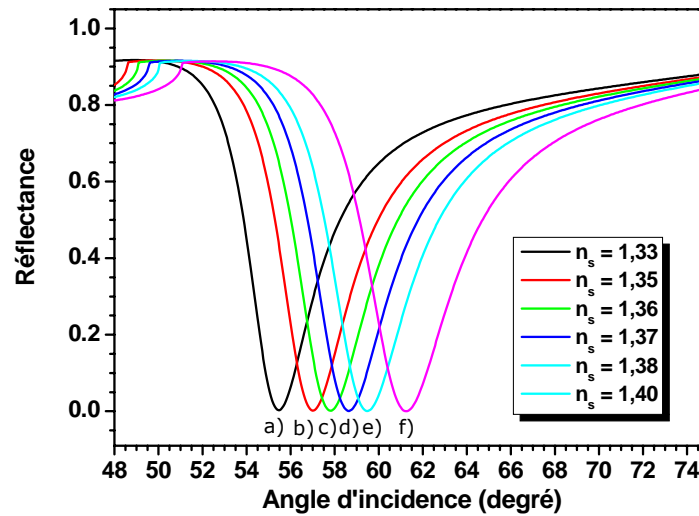


Figure II-4 : Variation de la réflectance en fonction de l'indice du milieu extérieur : (a) : 1,33, (b) : 1,35, (c) : 1,36, (d) : 1,37, (e) : 1,38, (f) : 1,40. Simulation obtenue avec la l'expression de la réflectivité donnée par Fresnel ($\lambda = 600 \text{ nm}$; $n_p = 1,8$; $\tilde{\epsilon}_m(600 \text{ nm}) = -15,999 + i \times 0,448$; $e = 50 \text{ nm}$)

II-2-2 Approximation de Kretschmann-Raether

Kretschmann et *Raether* [3-4] ont proposé d'écrire la réflectivité R (équation II-1), pour une polarisation- p , sous la forme d'une Lorentzienne symétrique à partir de quelques

approximations que nous allons rapidement évoquer.

Kretschmann et *Raether* remarquent que pour $2ik_{mz}d < 0$ et $\tilde{\epsilon}_m < 0$, le zéro du dénominateur de l'équation II-1 représente la relation de dispersion des plasmons de surface dans un système à couches fines, ce qui s'écrit :

$$1 + r_{pm}r_{ms} \exp(2ik_{mz}d) = 0 \quad (\text{II-9})$$

ce qui peut encore s'écrire :

$$\left(\frac{k_{pz}}{\epsilon_p} + \frac{k_{mz}}{\tilde{\epsilon}_m} \right) \left(\frac{k_{mz}}{\tilde{\epsilon}_m} + \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} \right) + \left(\frac{k_{pz}}{\epsilon_p} - \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} \right) \left(\frac{k_{mz}}{\epsilon_m} - \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} \right) \exp(2ik_{mz}d) = 0 \quad (\text{II-10})$$

E. Kretschmann proposa alors des approximations que nous allons préciser. Pour des grandes valeurs de d (et k_{mz} imaginaire pur), alors $\exp(2ik_{mz}d)$ tend vers 0. Nous retrouvons alors la relation de dispersion décrite par l'équation I-7 pour les plasmons à l'interface de deux milieux semi-infinis et dont la solution (équation I-9) a été démontrée au chapitre I et que *E. Kretschmann* nota k_x^0 :

$$k_x^0 = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\epsilon_p \tilde{\epsilon}_m}{\epsilon_p + \tilde{\epsilon}_m} \right)^{1/2} \quad (\text{II-11})$$

Maintenant, si la valeur de l'épaisseur d diminue, *E. Kretschmann* considère le second terme comme une perturbation $k_x^0 + k_R$ du premier, avec :

$$k_R = -\frac{\omega}{c} [r_{pm}]_{k_x=k_x^0} \left(\frac{2}{\tilde{\epsilon}_m - \epsilon_s} \right) \left(\frac{\tilde{\epsilon}_m \epsilon_s}{\tilde{\epsilon}_m + \epsilon_s} \right)^{3/2} \exp \left[i \frac{4\pi d}{\lambda} \frac{\tilde{\epsilon}_m}{(\epsilon_m + \epsilon_s)^{1/2}} \right] \quad (\text{II-12})$$

Le terme k_R est un nombre complexe, sa partie réelle aura pour effet de déplacer la position de la résonance des plasmons et sa partie imaginaire traduira un amortissement supplémentaire de l'onde incidente.

Ainsi, selon la condition de couplage (chapitre I) nous observerons une résonance des plasmons si :

$$\frac{2\pi}{\lambda} n_p \sin \theta_0 = k_x^0 \pm k_R \quad (\text{II-13})$$

La seconde approximation que propose *E. Kretschmann* est de faire le développement limité suivant :

$$k_{jz} = \sqrt{\frac{\omega^2}{c^2} \epsilon_i - (k_x^0 + k_R)^2} \approx k_{jz}^0 - \frac{k_x^0}{k_{jz}^0} k_R \quad (k_R \ll k_x^0) \quad (\text{II-14})$$

Enfin, la dernière approximation que proposera *E. Kretschmann* pour le calcul de la réflectance consiste à poser que $k_x^0 \gg k_R$ ce qui sera valable uniquement près de la résonance. L'équation II-1 s'identifie alors à une Lorentzienne de type

$$R = 1 - \frac{4k_0''k_R''}{(k_x - k_{sp}')^2 + k_{sp}''^2} \quad (\text{II-15})$$

avec k_0 le vecteur d'onde plasmon de surface pour un système semi-infini:

$$k_0 = k_0' + ik_0'' = \left(\frac{\omega}{C}\right) \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s}} \quad (\text{II-16})$$

$$k_{sp} = k_{sp}' + ik_{sp}'' = k_0 + k_R \quad (\text{II-17})$$

Par suite, dans cette approximation, la condition de résonance prend la forme suivante :

$$\begin{aligned} \sqrt{\epsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta = & \left(\frac{\omega}{C}\right) \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s}} \pm \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s}} \frac{\omega}{c} [r_{pm}]_{k_x=k_0} \times \dots \\ & \dots \times \left(\frac{2}{\epsilon_m - \epsilon_s}\right) \left(\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s}\right)^{3/2} \exp \left[i \frac{4\pi d}{\lambda} \frac{\epsilon_m}{(\epsilon_m + \epsilon_s)^{1/2}} \right] \end{aligned} \quad (\text{II-18})$$

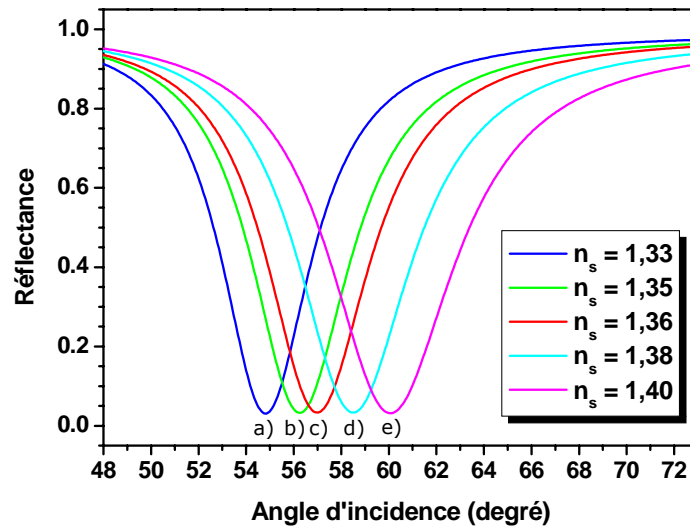


Figure II-5 : Variation de la réflectance en fonction de l'indice du milieu extérieur : simulation obtenue par la forme symétrique du kreschmann : (a) : 1,33, (b) : 1,35, (c) : 1,36, (d) : 1,38, (e) : 1,40. Simulation obtenue avec la forme symétrique de Kreschmann ($\lambda = 600 \text{ nm}$; $n_p = 1,8$; $\tilde{\epsilon}_m(600 \text{ nm}) = -15,999 + i \times 0,448$; $e = 50 \text{ nm}$)

Cette dernière relation fait apparaître les différents paramètres ayant un rôle dans le processus de couplage. Elle montre que le phénomène de résonance des plasmons dépend très fortement de la nature du diélectrique ϵ_s , (figure II-5, équation II-15) ainsi

que de la nature et de l'épaisseur de la couche métallique utilisée ϵ_m . Ceci est évidemment très bénéfique lors de la réalisation du capteur.

II-2-3 Approximation de Kurihara

Le modèle de *Kretschmann* connu un vif succès car il était facile à implémenter et l'équation II-18 qui en découle décrit explicitement les paramètres affectant la résonance, alors qu'à partir de la théorie de Fresnel les paramètres sont implicites. Cependant, le modèle de *Kretschmann* ne prévoit correctement le comportement de la résonance des plasmons qu'à la condition que l'on se situe dans la zone de validité des différentes approximations, ce qui revient à dire que le modèle n'est valable que tout près de la résonance. Par exemple, la courbe de réflectivité calculée s'écarte du résultat expérimental dès lors que l'on s'éloigne de la valeur de résonance (R symétrique alors que les courbes expérimentales ne le sont pas). Pour améliorer cette théorie, *Kurihara* [5-6] propose une variante à l'approche de *Kretschmann-Raether* en prenant une forme asymétrique plus globale pour calculer la réflectivité :

$$R = A \left[1 - \frac{B + C(k_x - k'_R)}{(k_x - k'_R)^2 + k_R''^2} \right] \quad (\text{II-19})$$

avec

$$A = \left| \frac{1}{\sqrt{S}} \right|^2 \quad \text{et} \quad S = S' + iS'' = [r_{pm}]_{k_x=k_0}^{-2} \quad (\text{II-20})$$

$$B = -|S|^2 |k_R|^2 + 2(S' - 1)k_R' + (k_R')^2 - 2S''k_R'k_R'' \quad (\text{II-21})$$

$$C = 2[(S' - 1)k_R' - S''k_R''] \quad (\text{II-22})$$

Les courbes calculées pour 800 nm sont présentées figure II-6. On pourra remarquer le caractère asymétrique de la résonance des plasmons de surface, forme plus en adéquation avec le modèle de Fresnel et les résultats expérimentaux présents dans la littérature.

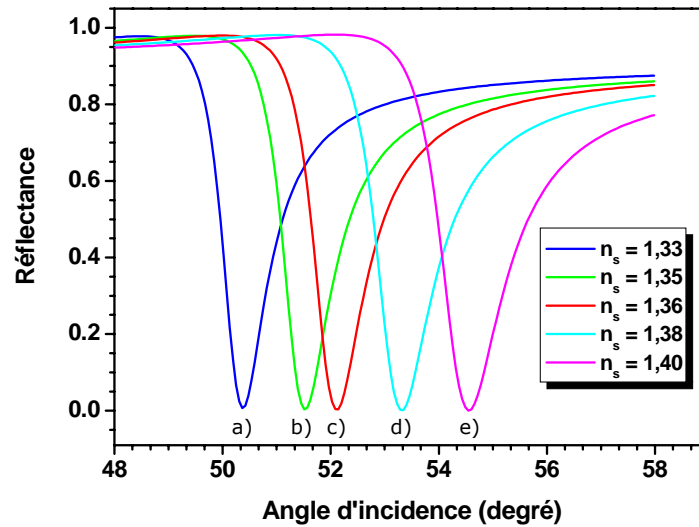


Figure II-6 : Variation de la réflectance en fonction de l'indice du milieu extérieur : (a) : 1,33, (b) : 1,35, (c) : 1,36, (d) : 1,38, (e) : 1,40. Simulations obtenues avec la forme asymétrique du kurihara ($\lambda = 800 \text{ nm}$; $n_p = 1,8$; $\tilde{\epsilon}_m(800 \text{ nm}) = -23,485 + i \times 2,047$; $e = 50 \text{ nm}$)

Finalement, nous avons développé un code sous Matlab qui permet de simuler numériquement la réflectivité de la lumière selon la configuration de *Kretschmann-Raether*. Ce code, élaboré pour différents modèles (*Fresnel*, *Kretschmann* et *Kurihara*), nous permet d'étudier et de comparer ces trois modèles. La figure II-7 représente la superposition des réponses simulées selon les 3 modèles. On remarquera que le modèle de *Kretschmann* s'écarte très nettement des deux autres modèles.

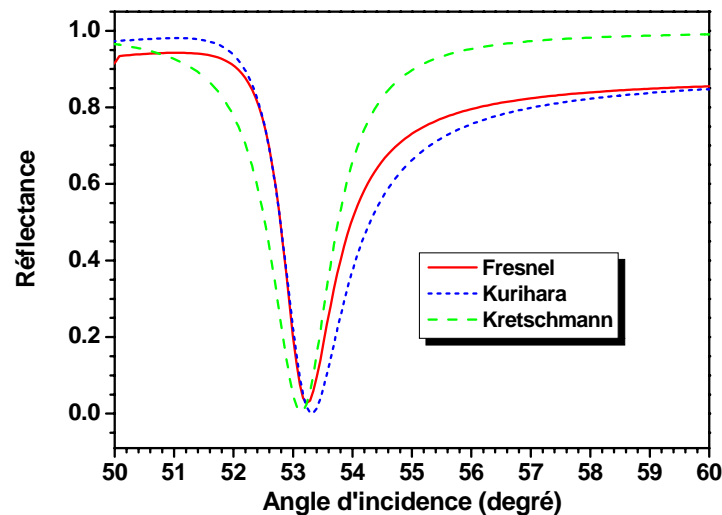


Figure II-7 : Comparaison entre les simulations obtenues avec les trois différents modèles : *Fresnel* (ligne continue en rouge), *Kurihara* (ligne pointée en bleu), *kretschmann* (ligne discontinue en vert) ($\lambda = 800 \text{ nm}$; $n_p = 1,8$; $\tilde{\epsilon}_m(800 \text{ nm}) = -3,485 + i \times 2,047$; $n_s = 1,38$; $e = 50 \text{ nm}$)

A travers ce premier travail numérique, nous montrons la sensibilité du système par

rapport aux indices des milieux diélectriques extérieurs (analytes). Ce résultat justifie parfaitement l'utilisation de tels systèmes comme capteurs chimiques. D'autre part, la réponse obtenue selon l'approximation de *Kretschmann* est à prendre avec beaucoup de précaution si l'on s'éloigne de la résonance, ce qui sera inévitablement le cas dans le calcul avec fibre optique.

II-2-4 Interrogation spectrale : modèle de Fresnel

A partir de ces premiers résultats, nous avons étudié la réponse du système prisme/métal/analytes (*p/m/s*) lors d'une interrogation dite spectrale. Ce travail préliminaire se justifie parfaitement comme nous le verrons par la suite, car dans le cas des fibres optiques, l'interrogation se fera en fonction de la longueur d'onde injectée.

Dans le cas de l'interrogation spectrale, les approximations de *Kretschmann* font que les simulations (figure II-8) s'écartent des résultats expérimentaux. En effet, les approximations font que ce modèle n'est valable qu'uniquement pour la longueur d'onde proche de la résonance. De ce fait, le modèle de *Kretschmann* est moins adapté pour le calcul en interrogation spectrale.

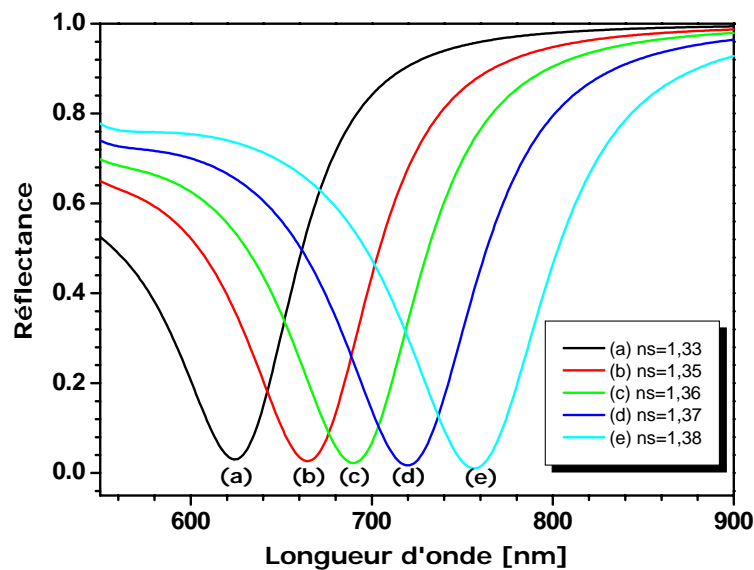


Figure II-8 : Variation de la réflectance en fonction de l'indice du milieu extérieur : (a) : 1,33, (b) : 1,35, (c) : 1,36, (d) : 1,37, (e) 1,38, (f) :1,40. Simulation obtenue avec le modèle de *Kretschmann* ($\theta = 45^\circ$; $n_p = 1,8$; $\varepsilon_m^\infty = 9,75$; $\omega_p = 1,36 \times 10^{16}$; $\omega_t = 1,45 \times 10^{14}$; $d = 50$ nm).

Par contre, le modèle de Fresnel ne souffrant d'aucune approximation, a donné de bons résultats. La variation de la réflectivité selon la longueur d'onde d'interrogation pour différents indices du milieu extérieur n_s est présentée sur la figure II-9. Notons que pour ces simulations, la fonction diélectrique du métal est approximée par la fonction de Drude ajustée sur les courbes expérimentales de la littérature [7].

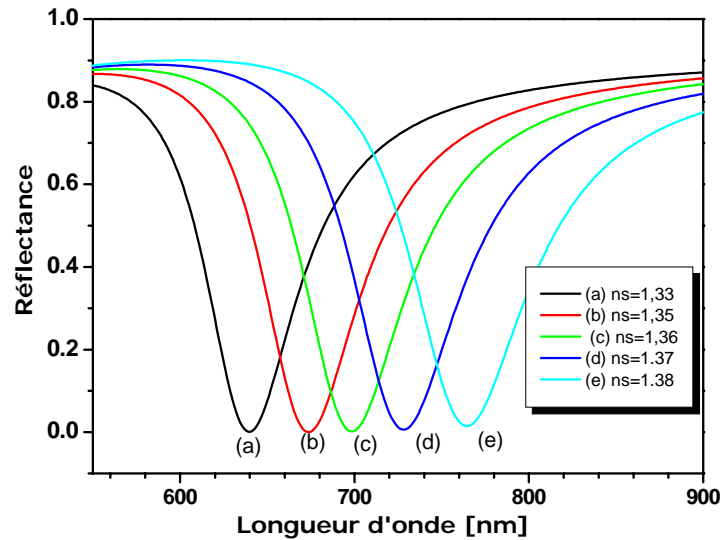


Figure II-9 : Variation de la réflectance en fonction de l'indice du milieu extérieur : (a) : 1,33, (b) : 1,35, (c) : 1,36, (d) : 1,37, (e) 1,38, (f) :1,40. Simulation obtenue avec le modèle de Fresnel ($\theta = 45^\circ$; $n_p = 1,8$; $\varepsilon_m^\infty = 9,75$; $\omega_p = 1,36 \times 10^{16}$; $\omega_t = 1,45 \times 10^{14}$; $d = 50 \text{ nm}$).

II-3 Propriétés générales des fibres optiques

II-3-1 Structure d'une fibre optique

Une fibre optique est un guide d'onde qui exploite les propriétés réfractrices de la lumière. Elle est habituellement constituée d'un matériau diélectrique d'indice n_c appelé cœur de la fibre, et entourée d'une gaine diélectrique d'indice n_g . Le cœur de la fibre a un indice de réfraction légèrement plus élevé que la gaine et peut donc confiner la lumière qui se trouve entièrement réfléchi de multiples fois à l'interface entre les deux matériaux (en raison du phénomène de réflexion totale interne). En pratique divers profils d'indice sont utilisés selon le type d'application.

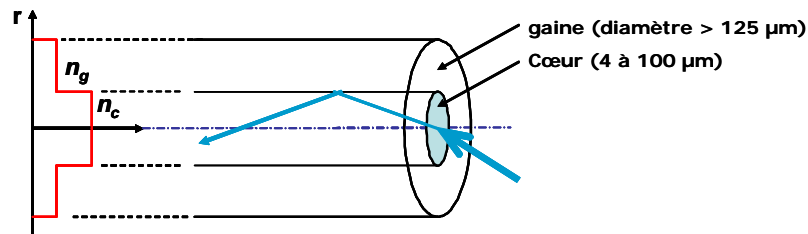


Figure II-10 Profil des indices optiques dans une fibre optique

Le profil le plus employé est celui à saut d'indice dans lequel la fibre est constituée de deux zones concentriques homogènes avec un saut brutal d'indice à l'interface, la zone centrale est le cœur et la couche périphérique est appelée gaine optique (figure II-10). On peut aussi citer la fibre à gradient d'indice pour laquelle la variation d'indice est

continue et non brutale comme dans le cas précédent. Bien d'autres profils existent mais que nous ne développerons pas, n'étant pas utilisés à ce jour pour des applications capteurs SPR. Le plus souvent, une enveloppe protectrice assure une protection à la fois mécanique et surtout optique vis à vis de la lumière extérieure.

Suivant la dimension du cœur, on distingue deux grandes familles de fibre optique: monomode et multimode. Les fibres monomodes présentent un cœur de quelques microns (3 à 10 μm) de diamètre, elles sont largement utilisées dans l'industrie des télécommunications du fait de leur large bande passante et leur haut débit de transmission. Les fibres multimodes présentent un cœur de diamètre relativement important (50-600 μm) et une grande ouverture numérique. Nous préférons ces dernières dans la conception de notre capteur pour leur dynamique de mesure importante (large gamme d'indice de réfraction) liées aux grandes ouvertures numériques, et pour leurs dimensions (cœur >100 μm) qui leur donnent une bonne résistance mécanique et qui permet de simplifier le dispositif expérimental.

Le choix d'un profil à saut d'indice tel que celui présenté sur la figure II-10 entraîne les conséquences suivantes :

- Pour qu'un rayon soit effectivement guidé dans la fibre, il faut que sa direction à l'entrée se situe dans un cône dit d'acceptance (figure II-11).
- L'angle d'acceptance (figure II-11) permet de définir l'ouverture numérique (*NA: numerical aperture*) de la fibre, qui dépend bien évidemment des indices respectifs de deux couches optiques : $NA = \sin \theta_{acc} = \sqrt{n_c^2 - n_g^2}$
- Un rayon guidé va subir une réflexion totale à l'interface de deux couches optiques.
- Un rayon hors du cône d'acceptance sera simplement réfracté à l'entrée dans la fibre puis à l'interface des deux couches, il passera alors dans la gaine et sera perdu. Il est donc nécessaire de définir une valeur minimale de l'angle d'incidence (θ_c angle critique) qui est liée à l'ouverture numérique de la fibre. On a donc :

$$\theta_c = \sin^{-1} \left(\frac{n_g}{n_c} \right) \quad (\text{II-23})$$

où n_c et n_g sont les indices de cœur et de la gaine respectivement. Par exemple, dans nos expériences les fibres multimodes avec une ouverture numérique (*NA*) de 0,22; ce qui permet d'éclairer la surface de la fibre sous une gamme d'angle comprise entre 82° et 90°.

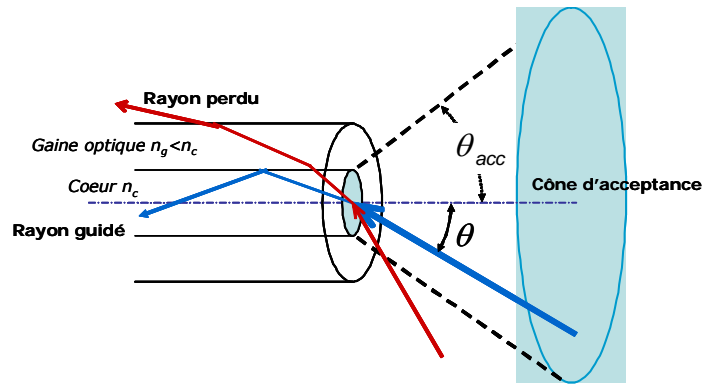


Figure II-11 : Schéma représentant le cône d'acceptance d'une fibre optique à saut d'indice

II-3-2 Guidage de la lumière dans une fibre optique (deux approches, deux types de rayons)

Pour mettre en équation le processus de guidage de la lumière dans une fibre optique, il existe deux approches théoriques: l'approche ondulatoire qui utilise les équations de Maxwell avec les conditions aux limites qui conduit à la notion de mode de propagation [8], et l'approche géométrique ou optique des rayons, valable pour des cœurs de grande dimension (vis à vis de la longueur d'onde de la lumière considérée)[9-12]. La première approche est valable pour toutes dimensions de cœur. Néanmoins, les fibres optiques ainsi que la source lumineuse utilisées dans notre étude autorisent l'utilisation de l'approche géométrique. Dans ce travail, nous avons utilisé cette approche plus simple et suffisante pour décrire les caractéristiques et le fonctionnement des capteurs étudiés.

Si l'on examine les rayons lumineux en fonction de leur direction d'entrée dans la fibre, on constate que certains ont une trajectoire « hélicoïdale », c'est à dire ne coupant jamais l'axe de la fibre, tandis que d'autres au contraire seront de type « méridionaux », ce qu'illustre la figure II-12 représentant une projection des trajectoires dans le cœur de la fibre [13,14].

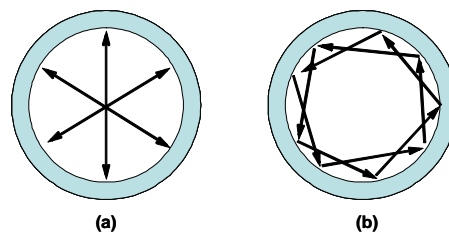


Figure II-12 : Rayons dans une fibre optique : (a) rayons méridionaux et (b) rayons hélicoïdaux.

Dans notre travail, nous avons limité nos calculs aux rayons méridionaux. Cette hypothèse simplificatrice est justifiée par plusieurs équipes qui ont montré que l'approche des rayons méridionaux conduisait à une très bonne approximation avec un faible impact sur le résultat final [15]. De même, les sauts de phase encore nommés Goos-Hanchen [8,16] n'ont pas été pris en compte. Nous avons en effet pu vérifier que dans notre cas

ce décalage de « Goos-Haenshen » était négligeable par rapport à la longueur de la zone sensible de la fibre capteur.

II-4 Résonance des plasmons de surface dans une fibre optique (FO)

Pour pouvoir observer expérimentalement la résonance des plasmons de surface dans une fibre optique, il est nécessaire de dénuder la fibre de sa gaine optique et de la métalliser sur quelques centimètres. Il est alors possible sous certaines conditions de coupler la lumière avec une telle onde de surface à l'interface entre le métal déposé sur le cœur de la fibre et le milieu diélectrique qui entoure la fibre. Le principe du couplage reste donc identique au couplage par prisme (figure II-13).

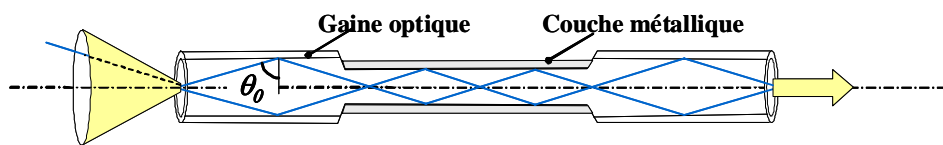


Figure II-13 : Représentation de la zone sensible dans un capteur SPR fibre optique

Par contre, dans un dispositif à prisme, il est possible de sélectionner l'angle et la polarisation ce qui est difficile dans une fibre optique. Ceci permet d'ajuster le dispositif pour une excitation optimale du plasmon de surface pour un indice du milieu diélectrique donné. Dans une fibre optique éclairée en lumière blanche, pour un milieu diélectrique d'indice donné, de nombreux rayons respectant les conditions de couplage sont susceptibles de coexister, en fonction de l'angle de propagation et la longueur d'onde. Dans une fibre optique multimode dont l'ouverture numérique (NA) est de 0,22; tous les rayons injectés dans les conditions de réflexion totale (entre 82° et 90°) peuvent exister en même temps. Par conséquent, l'excitation plasmon de surface dans une fibre optique ne correspond pas réellement à la position de résonance mais à la somme de résonances associées à tous les couples (λ_i, θ_i) donnés par les conditions de résonance. C'est pourquoi, l'approximation de *Kretschmann* n'est pas valable pour calculer les coefficients de réflexion dans une fibre optique.

II-4-1 Calcul de la réflectivité dans une fibre optique

Le principe du calcul que nous avons choisi pour déterminer la réflectivité de la lumière est basé sur un système multicouche (figure II-14).

Nous avons considéré l'interface cœur-gaine de la fibre comme une structure plane du fait du grand diamètre de la fibre devant la longueur d'onde de la lumière.

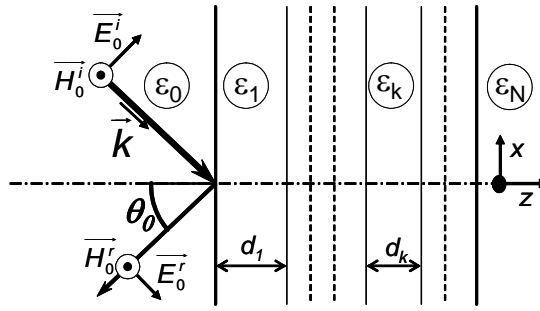


Figure II-14 : Schéma d'un système multicouche

Les coefficients de réflexion ont été calculés en utilisant la méthode matricielle développée initialement par Abélès [17] dans le cas d'une structure multicouche plane [18-20]. D'après cette méthode, il est possible d'étudier l'interaction d'une onde électromagnétique pour un ensemble de couches. Cette représentation matricielle explicite le champ électromagnétique après une réflexion sur un nombre fini d'interfaces successives supposées planes et infinies dans le plan perpendiculaire au plan d'incidence. Ce modèle permet en outre de décrire un système composé de N couches dont les deux extrêmes sont d'épaisseurs semi-infinies.

Dans notre système, chaque couche k d'épaisseur d_k est caractérisée par deux paramètres : sa constante diélectrique ϵ_k et sa perméabilité magnétique μ_k . Nous avons considéré que la première couche est le cœur de la fibre et la dernière est le milieu extérieur. Pour chacune des couches, on définit l'indice optique complexe n_k relié à la constante diélectrique ϵ_k par :

$$n_k^2 = \epsilon_k = (n_k + ik_k)^2 \quad (\text{II-24})$$

où la partie réel n_k est l'indice de réfraction et la partie imaginaire k_k est le coefficient d'extinction.

Un système de N couches est par conséquent défini par un ensemble (n_k, k_k, d_k) . Toutes les couches, sauf la première et la dernière, sont représentées par des matrices de passage M_k , $1 < k < N$, qui relient les amplitudes des composantes tangentielles du champ électromagnétiques à l'interface entre les couches k et $k+1$. Les amplitudes U_1 et V_1 des composantes tangentielles du champ résultant de la première interface sont reliées à celles de U_{N-1} et V_{N-1} du champ résultant de la dernière interface par la relation suivante :

$$\begin{bmatrix} U_1 \\ V_1 \end{bmatrix} = M \begin{bmatrix} U_{N-1} \\ V_{N-1} \end{bmatrix} \quad (\text{II-25})$$

Nous examinons le cas particulier du milieu homogène, isotrope, et non magnétique où les paramètres caractéristiques du milieu gardent une valeur constante ϵ_k et μ_k à l'interface entre les couches k et $k+1$. Les éléments de la matrice résultante M , définie par le produit des matrices M_k sont notés $(M_{11}, M_{12}, M_{21}, M_{22})$. Pour ce système, la matrice

\mathbf{M} est donnée par :

$$\mathbf{M} = \prod_{k=1}^{N-1} \mathbf{M}_k = \begin{pmatrix} M_{11} & M_{12} \\ M_{21} & M_{22} \end{pmatrix} \quad (\text{II-26})$$

Dans le cas d'une onde polarisée- \mathbf{p} (TM), les composantes tangentielles sont \mathbf{E}_x et \mathbf{H}_y , soit $U_j = H_{yj}$ et $V_j = E_{xj}$. La continuité de ces composantes du champ conduit à la définition des matrices de passage \mathbf{M}_k :

$$\mathbf{M}_k^p = \begin{bmatrix} \cos \beta_k & \frac{-i \sin \beta_k}{q_k^p} \\ -iq_k^p \sin \beta_k & \cos \beta_k \end{bmatrix} \quad (\text{II-27})$$

où on définit q_k l'admittance optique:

$$q_k^p = \left(\frac{\mu_k}{\varepsilon_k} \right)^{1/2} \cos \theta_k = \frac{(\varepsilon_k - n_c^2 \sin^2 \theta_0)^{1/2}}{\varepsilon_k} \quad (\text{II-28})$$

et β_k le déphasage induit par chaque interface :

$$\beta_k = \frac{2\pi}{\lambda} n_k d_k \cos \theta_k = \frac{2\pi d_k}{\lambda} (\varepsilon_k - n_c^2 \sin^2 \theta_0)^{1/2} \quad (\text{II-29})$$

Dans le cas d'une onde polarisée- \mathbf{s} (TE), les composantes tangentielles continues sont \mathbf{E}_y et \mathbf{H}_x . L'admittance optique est écrite sous la forme suivante :

$$q_k^s = \left(\frac{\varepsilon_k}{\mu_k} \right)^{1/2} \cos \theta_k = (\varepsilon_k - n_c^2 \sin^2 \theta_0)^{1/2} \quad (\text{II-30})$$

La matrice de passage \mathbf{M}_k s'écrit alors :

$$\mathbf{M}_k^s = \begin{bmatrix} \cos \beta_k & \frac{-i \sin \beta_k}{q_k^s} \\ -iq_k^s \sin \beta_k & \cos \beta_k \end{bmatrix} \quad (\text{II-31})$$

Finalement, l'expression générale de la réflectivité \mathbf{R} en fonction des coefficients de réflexion de Fresnel et des termes de la matrice résultante \mathbf{M} est obtenue par :

$$R_p = |r_p|^2 = \frac{\left| (M_{11}^p + M_{12}^p q_N^p) q_1^p - (M_{21}^p + M_{22}^p q_N^p) \right|^2}{\left| (M_{11}^p + M_{12}^p q_N^p) q_1^p + (M_{21}^p + M_{22}^p q_N^p) \right|^2} \quad (\text{II-32})$$

$$R_s = |r_s|^2 = \left| \frac{(M_{11}^s + M_{12}^s q_N^s) q_1^s - (M_{21}^s + M_{22}^s q_N^s)}{(M_{11}^s + M_{12}^s q_N^s) q_1^s + (M_{21}^s + M_{22}^s q_N^s)} \right|^2 \quad (\text{II-33})$$

II-4-2 Calcul de la puissance transmise par une fibre

Lorsqu'un rayon lumineux est injecté sur la face d'entrée d'une fibre optique, il est réfracté ou réfléchi dans le plan d'incidence. Le rayon réfracté vient ensuite se réfléchir ou se réfracter à l'interface cœur/gaine. Pour exciter un plasmon de surface, un rayon lumineux doit subir une réflexion totale sur la surface de séparation cœur/métal. Il y a donc une réflexion totale si l'angle d'incidence est supérieur à l'angle critique θ_c défini par la relation II-23. Alors, la puissance transmise de chaque rayon injecté dans la fibre dépend de la réflectance R_{ref} de rayon réfléchi à l'interface cœur/métal et du nombre de réflexions N_{ref} que subira le rayon lumineux caractérisé par son angle d'incidence θ_{in} et sa longueur d'onde (figure II-15).

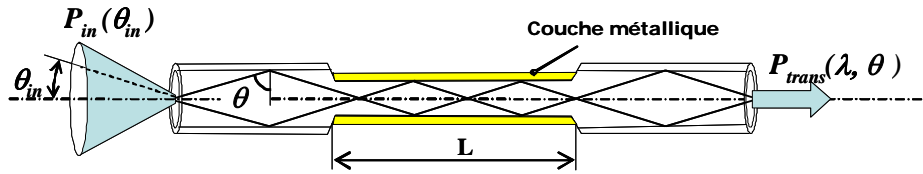


Figure II-15 : Schéma représentant la puissance transmise par la fibre optique

Ce nombre de réflexions est déterminé très précisément en fonction de l'angle de propagation (θ), du diamètre du cœur D et de la longueur de la couche sensible L (figure II-15). Il est donné par la relation suivante [12, 21] :

$$N_{ref} = \frac{L}{D \tan \theta} \quad (\text{II-34})$$

La puissance lumineuse transmise P_{trans} de rayon injecté avec un angle d'incidence (θ_{in}) et caractérisé par sa longueur d'onde (λ_{in}) est donné par :

$$P_{trans} = (R_{ref})^{N_{ref}(\theta)} \quad (\text{II-35})$$

Notons que pour une source monochromatique, l'intensité reste constante quelque soit l'angle d'injection, alors que dans notre travail, nous avons utilisé une source de lumière de type *Lambertienne*, dont l'intensité du faisceau injecté varie continuellement selon l'angle d'injection de chaque rayon. Mais une fois la lumière injectée dans la fibre, elle est alors directionnelle et nous pouvons lui attribuer une distribution de puissance modale [15]. Par conséquent, la puissance, dP , sortant de la fibre entre les angles θ_0 et $\theta_0 + d\theta_0$ (figure II-16) est proportionnelle à :

$$dP \propto \left(\frac{\tan \theta_0}{\cos^2 \theta_0} d\theta_0 \right) \quad (\text{II-36})$$

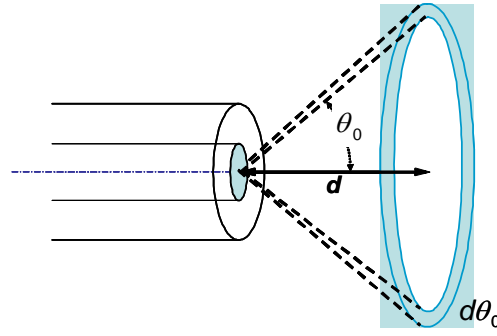


Figure II-16 : Schéma représentant la face de sortie de la fibre

En utilisant la loi de Snell, on peut écrire :

$$\sin \theta_0 = n_c \sin\left(\frac{\pi}{2} - \theta\right) \quad (\text{II-37})$$

où θ est l'angle formé entre l'axe perpendiculaire à l'interface fibre/métal et le rayon lumineux (figure II-17).

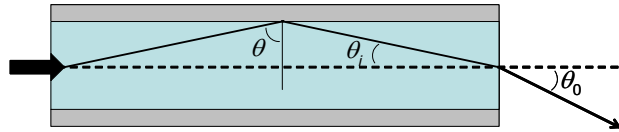


Figure II-17 : Schéma définissant l'angle à l'interface fibre/métal.

Il vient alors :

$$dP \propto \frac{n_c^2 \sin \theta \cos \theta}{(1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2} d\theta \quad (\text{II-38})$$

Finalement, avec une source lumineuse collimatée et non polarisée, l'expression généralisée de la puissance de la lumière transmise et normalisée dans la fibre optique s'écrit :

$$P_{trans} = \frac{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} R_{ref}^{N_{ref}(\theta)} \times \frac{n_c^2 \sin \theta \cos \theta}{(1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2} d\theta}{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} \frac{n_c^2 \sin \theta \cos \theta}{(1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2} d\theta} \quad (\text{II-39})$$

À partir de cette expression, nous pouvons calculer la puissance de la lumière transmise dans la fibre optique, mais il faut aussi calculer la réflectivité R_{ref} des rayons réfléchis à l'interface cœur/métal. Nous pouvons alors utiliser les formules II-32 et II-33 dans le cas du modèle multicouche.

De manière à tenir compte des deux types de polarisation, la puissance lumineuse transmise sera calculée distinctement avec les coefficients de réflexion pour les polarisations **-s** et **-p**. La puissance transmise totale sera déduite de la moyenne des contributions des deux polarisations :

$$P_{trans} = \frac{P_p + P_s}{2} \quad (\text{II-40})$$

Alors la puissance transmise totale est donnée par l'équation :

$$P_{trans} = \frac{1}{2} \left[\frac{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} R_p^{N_{ref}(\theta)} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta}{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta} + \dots \right. \\ \left. \dots + \frac{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} R_s^{N_{ref}(\theta)} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta}{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta} \right] \quad (\text{II-41})$$

où R_p est la réflectivité de la lumière de polarisation **-p** et R_s est celle de la lumière de polarisation **-s**.

Comme nous avons déjà montré que le phénomène SPR ne se produit pas quand le rayon incident a une polarisation **-s** (paragraphe II-2), la puissance lumineuse transmise par la fibre ne pourra être, dans les meilleures conditions de résonance, que la moitié de la puissance injectée à la face d'entrée de la fibre. L'expression finale de P_{trans} pourra être écrite sous la forme suivante :

$$P_{trans} = \frac{1}{2} \left[\frac{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} R_p^{N_{ref}(\theta)} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta}{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta} + 1 \right] \quad (\text{II-42})$$

Cette expression est donc la base de notre travail numérique sur les fibres optiques. Elle tient compte de la géométrie de la fibre, de la zone sensible, de l'ouverture numérique et des différents indices de réfraction des matériaux mis en jeu. Néanmoins, elle est déterminée pour une longueur d'onde fixée. Il est donc nécessaire de balayer sur toutes les longueurs d'onde pour simuler les courbes expérimentales, obtenues en injectant une lumière blanche. L'expression finale s'écrit enfin :

$$P_{trans}(\omega) = \sum_{\omega_{inf}}^{\omega_{sup}} \frac{1}{2} \left[\frac{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} [R_p(\omega)]^{N_{ref}(\theta)} \times \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta}{\int_{\theta_c}^{\frac{\pi}{2}} \left[n_c^2 \sin \theta \cos \theta / (1 - n_c^2 \cos^2 \theta)^2 \right] d\theta} + 1 \right] \quad (II-43)$$

L'expression II-43 a été programmée pour calculer numériquement la puissance totale transmise P pour différentes caractéristiques de la fibre (profil, géométrie..) et la nature de métal utilisé (Ag, Au..).

II-5 Propriétés optiques des différents milieux

Notre modèle est donc formé d'une structure multicouche. La configuration la plus simple est formée de trois milieux (figure II-18) : le cœur de la fibre, la couche métallique et le milieu diélectrique qui peut être l'analyte à détecter. Chaque milieu est caractérisé par sa permittivité. Nous décrivons ici les permittivités de différents milieux utilisées dans nos calculs.

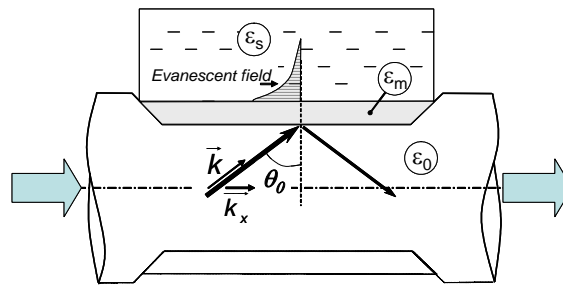


Figure II-18 : Schéma de principe du capteur FO-SPR.

II-5-1 Dispersion chromatique de la silice

Le milieu incident est le cœur de la fibre, qui possède une permittivité ϵ_0 , correspondant à celle de la silice. Nous avons utilisé la dispersion chromatique de l'indice de la silice trouvée dans la littérature et présentée par l'équation suivante, dérivée de la formule de Schott (série de puissance approche de Sellmeier) :

$$n_0(\lambda) = \sqrt{\epsilon_0} = \sqrt{A_0 + A_1 \lambda^2 + A_2 \lambda^{-2}} \quad (II-44)$$

qui est valable dans la gamme d'intérêt 500-1200nm [22, 23]. Le meilleur accord est donné pour $A_0 = 2,09888$; $A_1 = -0,00935 \mu\text{m}^{-2}$ et $A_2 = 0,01141 \mu\text{m}^2$ (figure II-19).

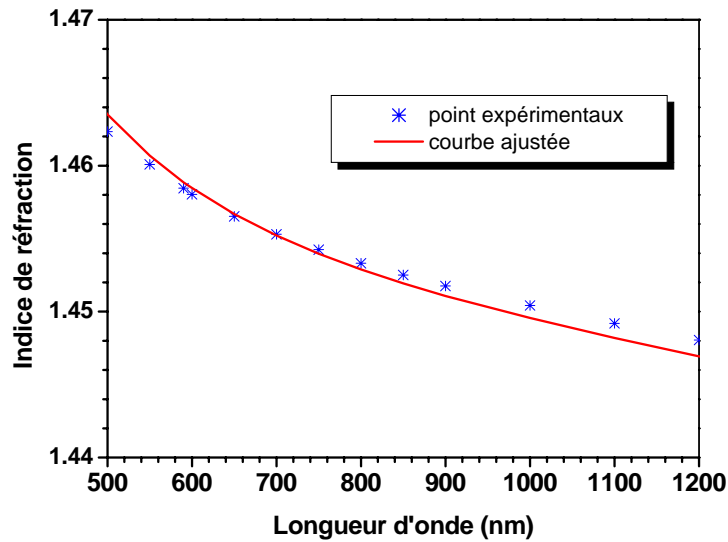


Figure II-19 : Dispersion chromatique de l'indice du cœur (silice).

L'expression analytique complète de Schott est quand à elle valable dans une gamme de longueur d'onde comprise entre 150 et 3500 nm (figure II-20).

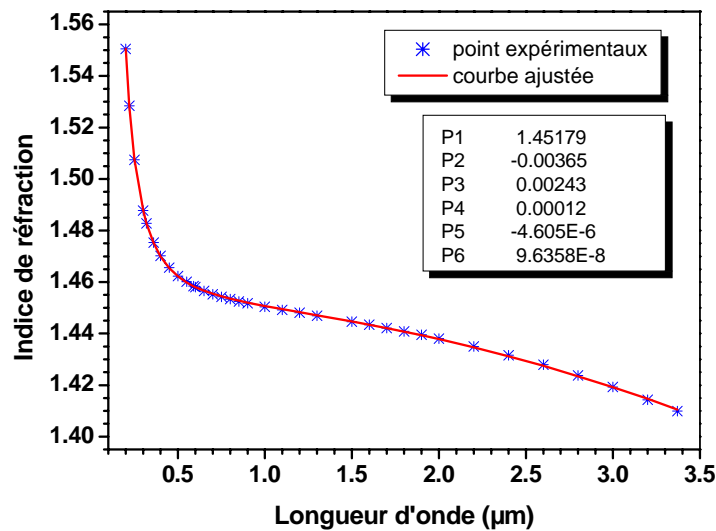


Figure II-20 : Dispersion chromatique de l'indice du cœur (silice) modèle de Schott ($n = P_1 + P_2\lambda^2 + P_3\lambda^{-2} + P_4\lambda^{-4} + P_5\lambda^{-6} + P_6\lambda^{-8}$ (λ en μm)).

II-5-2 Fonction diélectrique d'un métal noble

Le modèle de Drude permet de prédire qualitativement le comportement des électrons dans un métal. Il suppose que le métal massif peut être vu comme un ensemble de charges positives (les ions) immobiles et de charges négatives libres (les électrons de conduction) délocalisés dans tout le métal. Dans ce modèle, on fait deux approximations :

- Les électrons sont considérés comme libres et indépendants.

- Les interactions électron-électron et électron-photons sont négligées, l'effet du champ magnétique n'est pas pris en compte.

La fonction diélectrique du métal peut alors se calculer en résolvant l'équation de mouvement d'un électron libre sous l'effet d'un champ électrique. On obtient l'expression connue pour la fonction diélectrique :

$$\varepsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\omega_\tau)} \quad (\text{II-45})$$

Si les électrons libres ne sont pas dans le vide et que l'ensemble des charges positives possède une constante diélectrique que l'on notera ε^∞ , constante pour des fréquences nettement supérieures à ω_p , on pourra alors écrire l'équation II-45 :

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon^\infty - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\omega_\tau)} \quad (\text{II-46})$$

Ce modèle constitue une bonne approximation pour les métaux simples comme l'aluminium et les métaux alcalins. Par contre, les métaux nobles tels que le cuivre, l'argent et l'or ont une structure électronique plus complexe : ils possèdent une bande de valence **(n-1)d** complètement remplie et seulement un électron sur la couche externe **ns** ($5d^{10} 6s^1$ pour l'or, $4d^{10} 5s^1$ pour l'argent, $3d^{10} 4s^1$ pour le cuivre). Dans le matériau massif, les électrons **s** sont délocalisés dans le réseau cristallin et forment un gaz d'électrons quasi-libres. La contribution des électrons de la bande **s** à la fonction diélectrique du métal est donc bien décrite par la fonction de Drude. Par contre, il existe une transition électronique dite hybride faisant passer un électron de la couche **d** pleine vers la couche **s** à demi remplie. Ceci se traduit par une évolution de la fonction diélectrique au voisinage de ces transitions que le modèle de Drude ne prend pas en compte.

Ainsi, contrairement au cas des métaux alcalins, les électrons liés (électrons de cœur) contribuent donc également à la fonction diélectrique : il existe des transitions optiques entre la bande de valence **d** et la bande de conduction **s-p** hybridée, qu'on appelle les transitions interbandes ou hybrides. En raison du principe d'exclusion de Pauli, il existe une énergie minimale nécessaire pour exciter un électron de la bande de valence vers la bande de conduction. On appelle cette énergie minimale le seuil de transition interbande. Pour les métaux nobles, l'existence des transitions interbandes se traduit par un déplacement de pulsation plasma vers les faibles énergies : 2,1eV pour le cuivre due à la transition interbande $3d^{10}4s^1-3d^94s^2$, 3,9eV pour l'argent (transition interbande $4d^{10}5s^1-4d^95s^2$) et 1,84eV pour l'Or (transition interbande $5d^{10}6s^1-5d^96s^2$) et par une augmentation brutale de la partie imaginaire de la fonction diélectrique du métal comme nous allons le voir. Par conséquent, la réponse optique des métaux nobles ne peut donc plus être complètement décrite par le modèle de Drude.

II-5-2-1 Nature et choix du métal

Le rôle principal de la couche métallique déposée sur la zone dénudée de la fibre optique est de rendre possible la résonance des plasmons de surface. Pour cela, un métal doit satisfaire la condition : $|\varepsilon_r| \gg 1$ et $|\varepsilon_r| \gg |\varepsilon_i|$, nécessaire à la résonance des plasmons de surface.

Un métal sera donc un bon candidat pour un capteur SPR si son indice de réfraction a une partie imaginaire la plus faible possible et une partie réelle la plus grande possible en valeur absolue (négative). Ensuite, le métal doit être le plus stable possible vis à vis des milieux et des interactions impliqués lors des mesures expérimentales.

Pour sélectionner le métal, nous nous sommes limités à l'étude de quatre métaux nobles satisfaisant la condition de résonance : Cu, Ag, Al et Au. Pour cette étude, nous utiliserons les valeurs de la fonction diélectrique données par le modèle de Drude (équation II-45) et les plus couramment utilisées, (tableau II-1) [7, 24, 25]. La réponse fournie par un capteur à fibre optique constitué respectivement de ces 4 métaux est illustrée sur la figure II-21.

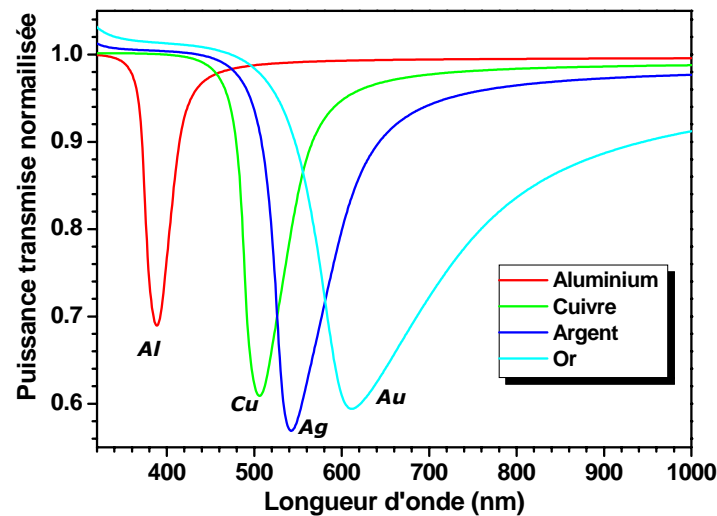


Figure II-21 : Variation de la puissance de la lumière transmise par une fibre optique en fonction de longueur d'onde pour différents métaux: simulations obtenues avec $n_s=1,35$; une épaisseur de la couche métallique $d=50\text{nm}$, et les caractéristiques de la fibre: $NA=0,22$; $D= 300 \mu\text{m}$; longueur de la zone sensibles $L=20\text{mm}$.

Tableau II.1 : Paramètres utilisés pour le calcul de la fonction diélectrique de l'aluminium, du cuivre, de l'argent et de l'or.

	Aluminium	cuivre	Argent	Or
ω_p (rad / s)	$1,76 \times 10^{16}$	$1,38 \times 10^{16}$	$1,35 \times 10^{16}$	$1,36 \times 10^{16}$
ω_τ (rad / s)	$7,68 \times 10^{13}$	$4,61 \times 10^{13}$	$7,62 \times 10^{13}$	$1,45 \times 10^{14}$

II-5-2-2 Fonction diélectrique expérimentale de couches minces d'or

D'après les simulations de la figure II-21, nous remarquons que les longueurs d'onde de résonance sont classées suivant l'ordre $Al < Cu < Ag < Au$, due à la condition de résonance satisfaite pour chaque métal. Parmi les métaux dont nous disposons, c'est l'argent qui a la résonance la plus prononcée, donc la plus précise mais ce métal se dégrade très rapidement par oxydation s'il n'est pas protégé par une couche protectrice [26, 27]. C'est le même problème avec l'aluminium et le cuivre qui s'oxydent spontanément.

Pour l'or, la résonance est moins prononcée et le pic de résonance est plus large, mais en pratique, l'or est un bon candidat car il est très stable vis à vis de l'oxydation et d'autres polluants atmosphériques. Il est néanmoins suffisamment réactif pour accueillir des couches « fonctionnalisantes » (ligands) présentant une grande variété d'interactions moléculaires [28]. C'est la principale raison qui justifie que l'or est retenu dans la plupart des biocapteurs SPR commerciaux. Pour ces mêmes raisons, nous nous sommes limités à l'étude des capteurs FO-SPR avec des couches d'or.

Les valeurs de la fonction diélectrique de couches d'or, les plus couramment utilisées dans la littérature [7,24], ont été reportées sur la figure II-22. On remarque tout de suite le relativement bon accord entre la fonction de Drude ajustée et les données expérimentales au dessus de 600nm. Inversement, on remarque la très forte divergence en dessous de 500 nm, associée à la présence des transitions interbandes.

Ces résultats paraissant un peu ancien, nous avons reproduit les mesures à l'aide d'un ellipsomètre disponible à l'IMN (collaboration avec *Christophe Cardinaud*, chercheur CNRS). Ces résultats sont reportés sur les figures II-23 et II-24. On remarque encore la forte divergence entre nos résultats et la fonction de Drude pour des longueurs d'onde inférieures à 600nm.

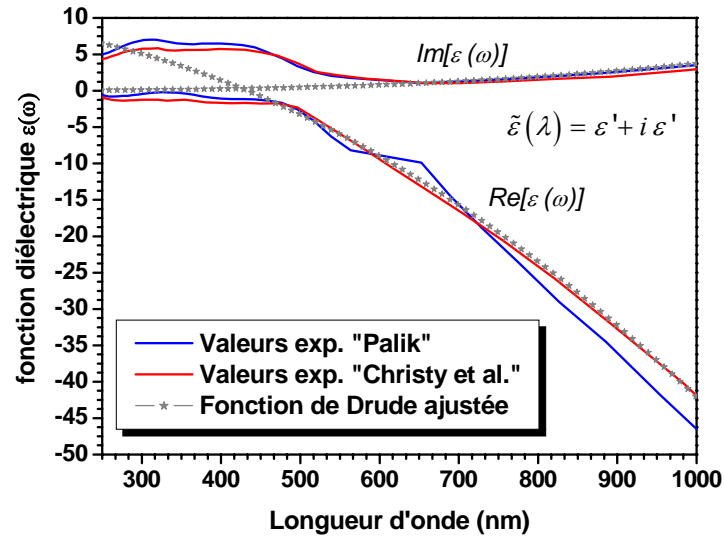


Figure II-22 : Fonction diélectrique (partie réelle et imaginaire) de l'or mesurée par Palik [24] et Christy [7]. Ces mesures mettent bien en évidence les transitions hybrides en dessous de 500 nm, et le désaccord entre les résultats expérimentaux et la fonction de Drude.

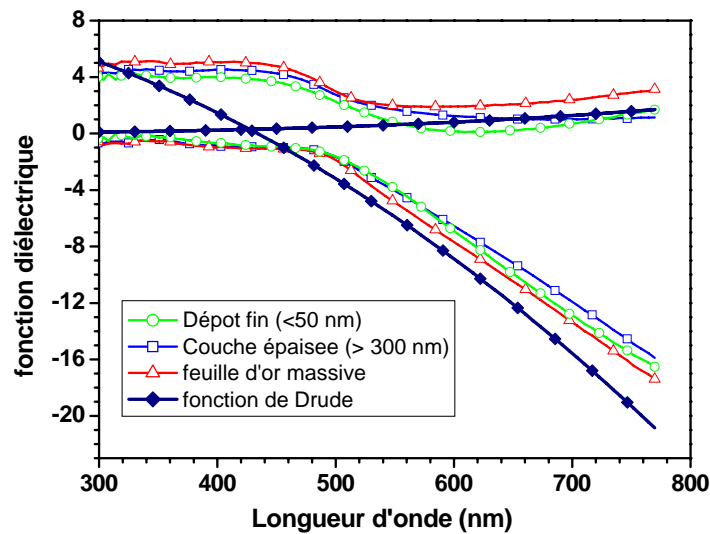


Figure II-23 : Fonction diélectrique (partie réelle et imaginaire) de l'or mesurée par ellipsométrie à l'Institut des Matériaux Jean Rouxel.

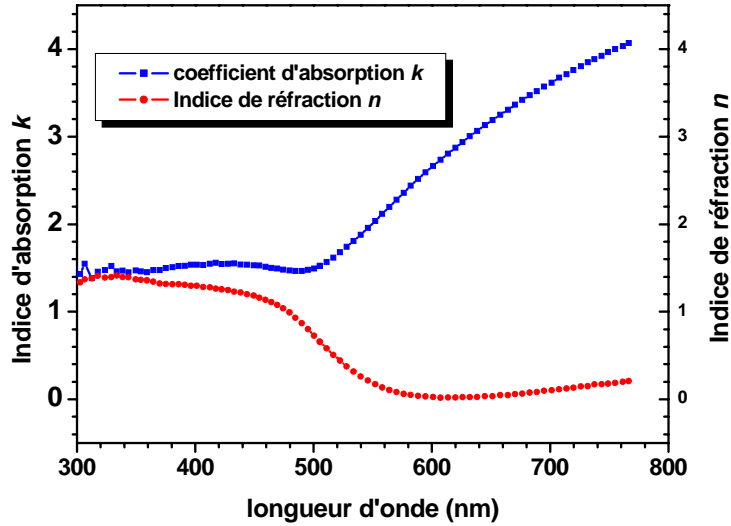


Figure II.24 : Coefficient d'extinction et indice de réfraction (partie imaginaire et réelle) de l'or mesurée par ellipsométrie. Ces mesures montrent les transitions hybrides en dessous de 500 nm.

II-5-2-3 Modélisation de la fonction diélectrique de l'or

Pour prendre en compte les transitions interbandes dans la fonction diélectrique, nous avons en première approximation séparé la contribution des électrons s de conduction, bien décrite par la fonction de Drude, de celle des excitations « électrons-trous » dominées dans le domaine UV/visible par les transitions interbandes. La fonction diélectrique peut donc s'écrire comme la somme de ces deux contributions :

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_{drude}(\omega) + \varepsilon_{IB}(\omega) = \varepsilon_1 + i\varepsilon_2 \quad (II-47)$$

où $\varepsilon_{drude}(\omega)$ représente la composante intrabande de la fonction diélectrique bien décrite par le modèle de Drude et $\varepsilon_{IB}(\omega)$ correspond à la composante interbande de la fonction diélectrique due aux transitions électroniques. Par contre cette composante peut être négligée dans le domaine infra-rouge où les transitions intrabandes dominent la réponse optique pour une énergie inférieure au seuil de transition.

Dans le cas de l'or, il y a deux transitions interbandes situées dans le domaine visible pointées à $\lambda_1=470$ nm et $\lambda_2=330$ nm. La composante interbande de la fonction diélectrique $\varepsilon_{IB}(\omega)$ peut donc être décomposée en deux simples oscillateurs de Lorentz [29]. La fonction diélectrique de l'or prend alors la forme suivante :

$$\varepsilon_{Au}(\omega) = \varepsilon_{\infty} - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i \cdot \omega_{\tau})} + G_1(\omega) + G_2(\omega) \quad (II-48)$$

avec

$$G_i(\omega) = C_i \left[\frac{e^{-i\frac{\pi}{4}}}{(\omega_i - \omega - i\omega_{\tau i})} + \frac{e^{i\frac{\pi}{4}}}{(\omega_i + \omega + i\omega_{\tau i})} \right] \quad \text{et} \quad i = 1, 2 \quad (\text{II-49})$$

G_i correspond au point critique de transitions [30], C_i est l'amplitude, ω_i est la pulsation de la transition (gap) et $\omega_{\tau i}$ est le terme d'amortissement caractéristique de la bande de transition i . Les valeurs expérimentales de la fonction diélectrique de l'or dans le domaine optique sont reportées en fonction de la longueur d'onde sur les figures II-25 et II-26.

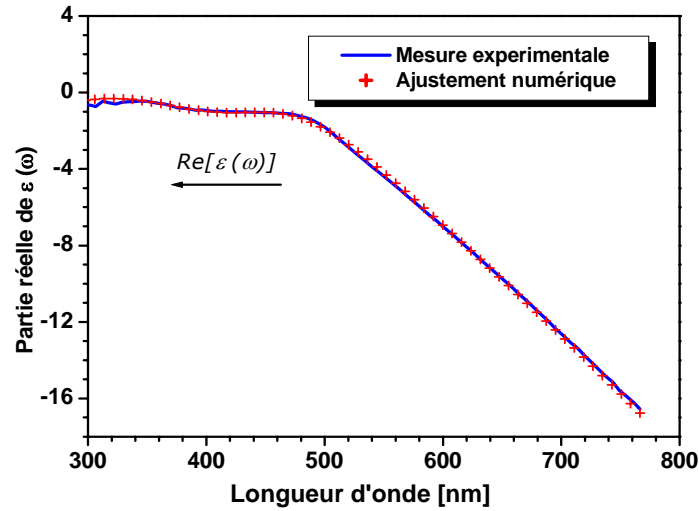


Figure II-25 : Partie réelle de la fonction diélectrique de l'or. Les résultats expérimentaux (—) sont ajustés avec le modèle de Drude-Lorentz (*).

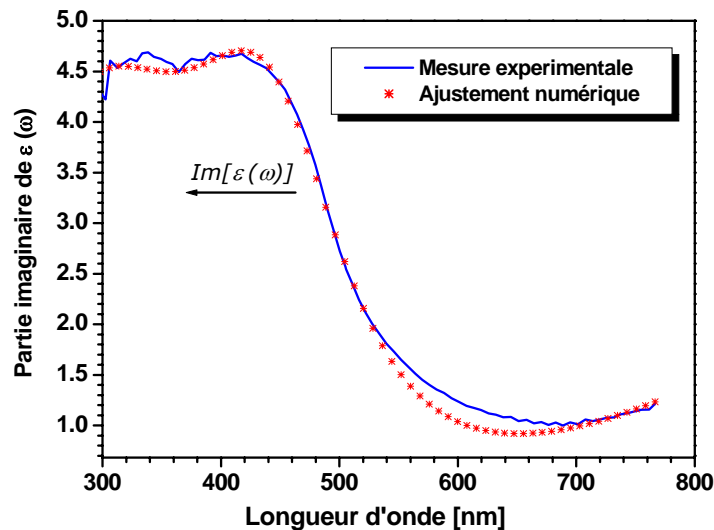


Figure II-26 : Partie imaginaire de la fonction diélectrique de l'or. Les résultats expérimentaux (—) sont ajustés avec le modèle de Drude-Lorentz (*).

Les valeurs expérimentales sont obtenues par des mesures ellipsométrie sur plusieurs films d'or ayant des épaisseurs comprises entre 25 et 60 nm. La forme cylindrique ainsi que la fragilité de la fibre optique rend impossible des mesures directes sur la zone

sensible du capteur. Ces mesures sont donc réalisées sur des lames de silice, métallisées selon le même protocole que celui utilisé pour la métallisation des fibres capteurs. Sur le même graphe, nous avons reporté les courbes expérimentales et ajustées par le modèle de *Drude-Lorentz* (équation II-48) figure II-25 et II-26. Les valeurs des paramètres ajustés par le modèle *Drude-Lorentz* sont reportées dans le tableau II-2. À partir de ces valeurs nous avons défini la fonction diélectrique du métal ϵ_m donnée par l'équation II-48 afin de l'intégrer dans notre code de calcul.

Tableau II-2 : Paramètres des équations II-48 et II-49 obtenus par l'ajustement des résultats expérimentaux avec le modèle de *Drude-Lorentz*.

Parameters (units)	Valeur
ϵ_∞	1.37
$\omega_p(\text{rad/s})$	1.17×10^{16}
$\omega\tau(\text{rad/s})$	1.53×10^{14}
C_1	0.76
$\omega_1(\text{rad/s})$	4.0085×10^{15}
$\omega\tau_1(\text{rad/s})$	8.27×10^{14}
C_2	1.22
$\omega_2(\text{rad/s})$	$5,6 \times 10^{15}$
$\omega\tau_2(\text{rad/s})$	$2,10 \times 10^{15}$

II-5-3 Permittivité optique du milieu diélectrique

La présence d'un champ électrique dans un milieu isotrope entraîne le déplacement par rapport à leur position d'équilibre des charges positives et négatives de chaque atome, ou molécules. Dans la plupart des matériaux diélectriques, cette séparation de charge sera directement proportionnelle au champ électrique appliqué. Le moment dipolaire induit s'écrit alors :

$$\vec{p} = \bar{\alpha} \vec{E} \quad (\text{II-50})$$

Dans le cas de solutions absorbantes, la résolution de l'équation différentielle du mouvement de l'électron (modèle de *Lorentz* utilisé précédemment) permet de déterminer la polarisabilité $\bar{\alpha}$, ainsi que l'indice de réfraction (pour j oscillateurs) :

$$\tilde{n}_s^2 = n_s + i \times k_s = \epsilon_s^\infty + \frac{Ne^2}{m\epsilon_0} \sum_j \frac{f_j}{\omega_{0j}^2 - \omega^2 + i\omega\gamma_j} \quad (\text{II.51})$$

L'examen des expressions de l'indice de réfraction n_s et du coefficient d'absorption k_s montre leur dépendance avec la pulsation ω . L'indice de réfraction n_s varie faiblement avec ω . Par contre, k_s subit une évolution très importante autour de la pulsation de résonance comme le montre la figure II-27.

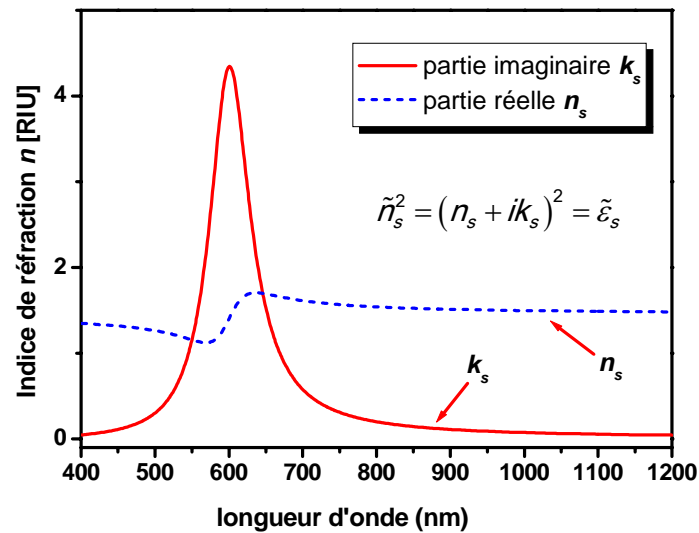


Figure II-27 : Coefficient d'absorption et indice de réfraction (partie imaginaire et réelle) d'un milieu absorbant (modèle de Lorentz).

Dans nos expériences, le milieu diélectrique (analyte) est caractérisé par sa permittivité ϵ_s . Les relations de dispersion des plasmons (chapitre I) ont montré que le phénomène de résonance des plasmons de surface dépend très fortement de la nature du diélectrique. En effet, l'augmentation de ϵ_s entraîne une augmentation de la composante tangentielle du vecteur d'onde plasmon de surface et, en conséquence, la résonance nécessite un nouvel accord avec le vecteur d'onde de la lumière incidente.

Dans le cadre de notre étude, nous avons supposé que le diélectrique est parfaitement transparent, c'est à dire que la partie imaginaire de sa constante diélectrique est nulle. Par ailleurs, on peut trouver dans la littérature des études effectuées dans des milieux absorbants (constante diélectrique complexe) [31, 32]. Une augmentation de l'absorption de la lumière par le diélectrique va modifier les courbes de résonance. Cette modification est due à la faible amplitude du champ évanescent à l'interface métal/ diélectrique. La variation de la réponse du capteur en fonction de la permittivité des différentes solutions ainsi que l'étude en temps réel de la variation de la puissance transmise par la fibre seront présentées dans les chapitres suivants.

Pour tester la réponse et la sensibilité de nos fibres capteurs, nous avons préparé différentes solutions de glycérol d'indices de réfraction n_s . La partie réelle de ces indices est mesurée à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé. La figure II-28 présente la courbe d'étalonnage pour des solutions d'eau/glycérol. Signalons qu'avant chaque mesure, les solutions sont vérifiées avec le refractomètre d'Abbé.

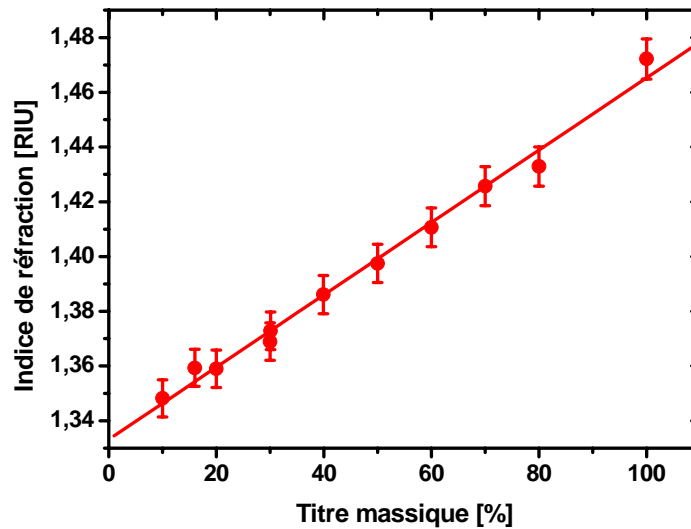


Figure II-28 : Indice des solutions tests de glycérol en fonction du titre massique [31].

II-6 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre notre choix de modèle numérique pour le calcul de la réflectivité de la lumière aux interfaces, et comment nous l'avons adapté pour étudier la réponse d'un capteur chimique à fibre optique basé sur la résonance des plasmons de surface. Le code a consisté à prendre en compte le calcul de la réflectivité de la lumière à l'interface entre la silice et une série de couches minces de nature très différente (métal, couche organique et milieu à sonder) ainsi que l'ajustement de la constante diélectrique du métal par le modèle de *Drude-Lorentz*. Les simulations numériques permettront donc de poser les bases de l'étude d'un capteur SPR réalisé expérimentalement à partir d'une fibre optique et cette étude fera l'objet des deux prochains chapitres.

Bibliographie

- [1] H. Reather, Surface plasmons on Smooth and rough Surfaces and on Gratings, Vol. 111 (1988) Springer Verlag, Berlin.
- [2] D. Courjon, C. Bainier, Le champ proche optique théorie et applications, Springer-Verlag France (2001).
- [3] E. kretschmann, H. Reather: Radiative decay of non-radiative surface plasmons excited by light, *Naturforsch.* 23 (1968) 2135.
- [4] E. Kretschmann, Die Bestimmung optischer Konstanten von Metallen durch Anregung von Oberflächenplasmashwingungen, *Z. Phys.*, 241 (1971) 313.
- [5] K. Kurihara, K. Suzuki, Theoretical understanding of absorption-based surface plasmon resonance sensor based on kretschmann's theory, *Anal. chem.* 74 (2002) 696-701.
- [6] K. Kurihara, K. Suzuki, Asymmetric SPR sensor response curve-fitting equation for the accurate determination of SPR resonance angle. *Sensors and Actuators, B* 86 (2002) 49-57.
- [7] P. B. Johnson and R. W. Christy, Optical Constants of the Noble Metals, *Phys. Rev. B* 6, (1972) 4370-4379.
- [8] J. Villatoro, D. Monzón-Hernández, E. Majía, Fabrication and modelling of uniform-waist single mode tapered optical fiber sensors, *Appl. Opt.* 42 (2003) 2278-2283.
- [9] Y. Xu, N. B. Jones, J. C. Fothergille, C. D. Hanning, Analytical estimates of the characteristics of surface plasmon resonance fiber-optic sensors, *Modern Optics* 47 (2000) 1099-1110.
- [10] F. Bardin, Capteur à fibre optique à gradient d'indice inversé basé sur la résonance des plasmons de surface : applications à la détection d'espèces chimiques, Thèse de doctorat de l'Université Jean Monnet de Saint-Etienne (2002).
- [11] A. K. Sharma, B. D. Gupta, Absorption-based fiber optic surface plasmon resonance sensor : a theoretical evaluation, *Sensors and Actuators B* 100 (2004) 423-431.
- [12] B. D. Gupta and A. K. Sharma, Sensitivity evaluation of a multi-layered surface Plasmon resonance-based fiber optic sensor: a theoretical study, *Sensors and Actuators B* 107 (2005) 40-46.
- [13] W. B. Lin, N Jaffrezic-Renault, A. Gagnaire, H. Gagnaire, The effects of polarisation of the incident light- modeling and analysis of a SPR multimode optical fiber sensor, *Sens. Actuators* 84 (2000) 198-204.
- [14] Y. Xu, A. Cottenden, N. B. Jones, A theoretical evaluation of fiber- optic evanescent wave absorption in spectroscopy and sensors, *Optics and Lasers in Engineering* 44 (2006) 93-101.
- [15] A. K. Sharma, B. D. Gupta, On the sensitivity and signal to noise ratio of a step-index fiber optic surface plasmon resonance sensor with bimetallic layers, *Opt. Comm.* 245 (2005) 159-169.
- [16] X. Yin, L. Hesselink , Goos-Hanchen shift surface plasmon resonance sensor, *Applied Physics Letters* 89 (2006) 261108.
- [17] F. Abeles: Recherches sur la propagation des ondes electromagnetiques sinusoidales dans les milieux stratifies. Application aux couches minces, *Annales de physiques* 5 (1950) 596.
- [18] G. J. Kovacs, G. D. Scott, Optical excitation of surface plasma waves in layered media, *Phys. Rev. B* 16 (1977) 1297.
- [19] P. Yeh, *Optical waves in layered media*, John Wiley and Sons, New York, (1988) 102-117.

- [20] Y. Pochi, Optical waves in layered Media, John Wiley & Sons, New York, (1988).
- [21] A. K. Sharma, R. Jha, B. D. Gupta, Fiber-optic sensors based on surface Plasmon resonance : a comprehensive review, IEEE sensors journal, 7 (2007) 1118-1129.
- [22] W. L. Wolfe in W. G. Driscoll (Ed.) Handbook of Optics Sponsored by the Optical Society of America, McGraw-Hill, New York (1978) Section 7.
- [23] W. J. Tropf, M. E. Thomas, T. J. Haris, in M. Bass (Ed.) Handbook of Optics (1995) Vol II, 2nd ed., McGraw-Hill, New York, Chapter 33.
- [24] ED. Palik, Handbook of optical constants (A), J. Opt. Soc. Am. A, vol. 1 (1984) 1297.
- [25] M. A. Ordal, L. L. Long, R. J. Bell, S. E. Bell, R. R. Bell, R. W. Alexander and C. A. Ward: Optical properties of metals Al, Co, Cu, Au, Fe, Pb, ni, Pd, pt, Ag, Ti, and w, Appl. Optic. 11 (1983) 1099-1119.
- [26] W.B. Lin, M. Lacroix, J.M. Chovelon, N. Jaffrezic-Renault, H. Gagnaire, Development of a fiber-optic sensor based on surface plasmon resonance on silver film for monitring aqueous media, sensors and Actuators B 75 (2001) 203-209.
- [27] A. abdelghani, J.M Chovelon, J.M. Krafft, N. Jaffrezic-Renault, A. Trouillet, C. Veillas, C. Ronot-Trioli, H. Gagnaire, Study of self-assembled monolayers of n-alkanethiol on a surface Plasmon resonance fiber optic sensor, Thin Solid Films 284/285 (1996) 157-161.
- [28] J. Homola, S.S. Yee, D. Myszka, Surface Plasmon biosensors, in F.S. Ligler (Ed.), Optical Biosensors: present and Future, Elsevier, amesterdam (2002) 207-251.
- [29] P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru, and M. Meyer, An analytic model for the optical properties of gold, Journal of chemical physics 125 (2006) 164705.
- [30] J. Ieng, J. Opsal, H. Chu, M. Senko and D. E. Aspnes, Analytic representations of the dielectric functions of materials for device and structural modelling, Thin solid Films 132 (1998) 313-314.
- [31] K. Balaa Capteur à fibre optique basé sur le principe de Résonance de Plasmons de Surface : optimisation pour la détection d'espèces chimiques, Thèse de doctorat de l'Université de Nantes (2007).
- [32] S. Ekgasit, A. Tangcharoenbumrungsuk, F. Yu, a. Baba, W. knoll: Resonance shifts in SPR curves of nanobsorbing, Weakly absorbing, and strongly absorbing dielectrics. Sensors and Actuators B 105 (2005) 532-541.

RÉALISATION DES FIBRES CAPTEURS & OPTIMISATION

III-1 Introduction	77
III-2 Réalisation des fibres capteurs.....	77
III-2-1 Préparation de la fibre optique	77
III-2-2 Métallisation par évaporation thermique (effet joule).....	78
III-2-3 Description du montage expérimentale : procédure de mesure	79
III-2-4 Résultats	81
III-3 Caractérisations topologiques de la couche métallique.....	83
III-3-1 Mesure de l'épaisseur	83
III-3-2 Etat de la surface.....	84
III-4 Mesure et simulation de la rugosité.....	86
III-4-1 Mesure de la densité spectrale de puissance	87
III-4-2 Concept de milieu effectif	91
III-4-3 Fonction diélectrique effective : Relation de Clausius-Mossotti	92
III-4-4 Théories des milieux effectifs: application à la rugosité de la surface	94
III-5 Validation de la modèle numérique et études paramétriques	98
III-5-1 Résultats numériques	98
III-5-2 Comparaison simulation et spectres expérimentaux	99
III-5-3 Etude numérique de principaux paramètres	101
III-6 Sensibilité et Rapport signal sur bruit du capteur SPR à fibre optique... 106	
III-6-1 Sensibilité.....	107
III-6-2 Rapport signal sur bruit	110
III-6-3 Comparaison fibre optique et prisme.....	111
III-6-4 Capteur fibre optique avec une couche d'argent	113
III-6-5 Capteur SPR par dépôt d'une couche bimétallique (argent/or)	114
III-7 Conclusion	117
Bibliographie	119

III-1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons présenté les fondements de notre modèle numérique. Dans ce chapitre, un de nos objectifs est de valider ce modèle numérique pour des conditions expérimentales réelles. Pour ce faire, nous avons comparé les résultats de notre modèle avec la réponse de différents capteurs SPR à fibre optique. Cela nous a amené à prendre en compte la rugosité de surface et en étudiant son influence sur la réponse de notre capteur.

Après avoir validé notre outil numérique, nous présentons une analyse des différents paramètres ayant un effet sur la réponse de ce type de capteur, et selon différentes conditions expérimentales. En particulier, une attention particulière est portée sur la sensibilité et sur la limite de détection, par l'intermédiaire du calcul du **SNR** (*signal to Noise Ratio*).

Ce chapitre est structuré comme suit. La section 2 vise à présenter la préparation de la fibre optique capteur, la méthode de dépôt de la couche métallique et le montage expérimental ainsi que la procédure de mesure des réponses SPR. La caractérisation des couches métalliques est ensuite présentée dans la section 3 ce qui va permettre d'extraire les paramètres caractéristiques de ces couches. La mesure et la prise en compte de la rugosité de la surface du métal sont aussi présentées dans la section 4. Les résultats de notre modèle numérique sont alors comparés avec nos mesures expérimentales, puis une étude numérique paramétrique effectuée sur les principaux paramètres du capteur est présentée dans la section 5. Finalement, dans la section 6, nous présentons une évaluation des deux paramètres principaux du capteur SPR : la sensibilité et le rapport signal sur bruit. Ces valeurs ont été calculées et comparées pour différentes configurations de capteurs SPR.

III-2 Réalisation des fibres capteurs

Dans cette section, nous allons décrire le montage expérimental, les caractéristiques de la fibre, le mécanisme de dépôt de la couche métallique et ses caractérisations. Le capteur fabriqué est utilisé dans le but d'étudier sa réponse en fonction de la longueur d'onde d'incidence. Nous présentons, par la suite, la procédure de mesure et les résultats expérimentaux obtenus pour une série de solutions eau/glycérol ayant différents indices.

III-2-1 Préparation de la fibre optique

Nous avons utilisé des fibres multimodes (*FT-300-EMT*) produites par la société *Thorlabs Inc.* Ce type de fibres a un cœur (en silice) et une gaine (en plastique) avec des diamètres respectifs 300 et 330 μm , et une ouverture numérique de 0,39. Dans un premier temps, la gaine mécanique et optique en polymère *Tefzel* (la fibre *FT-300-EMT*

n'a pas de gaine optique spécifique) est enlevée par un traitement thermique sur deux centimètres de la partie centrale de la fibre. Cette distance définit la longueur de la zone sensible. La zone sensible ainsi dénudée est soigneusement rincée et nettoyée avec de l'acétone.

Pour minimiser la diffusion de la lumière, les faces d'entrée et de sortie de la fibre doivent être parfaitement planes. Dans ce cas, tous les rayons du faisceau collimaté ont la même incidence quelque soit le point d'impact sur la face d'entrée. Pour cela, la fibre est clivée avec une cliveuse adaptée. Avant l'utilisation, les extrémités de la fibre sont nettoyées à l'éthanol et à l'acétone. Dans une seconde étape, une couche d'or est déposée sur la zone dénudée par évaporation thermique. La prochaine section décrit ce processus d'évaporation.

III-2-2 Métallisation par évaporation thermique (effet Joule)

Après avoir dénudée la fibre optique, sa zone sensible a été nettoyée avec de l'acétone, puis la fibre a été introduite dans un bâti d'évaporation (figure III-1).

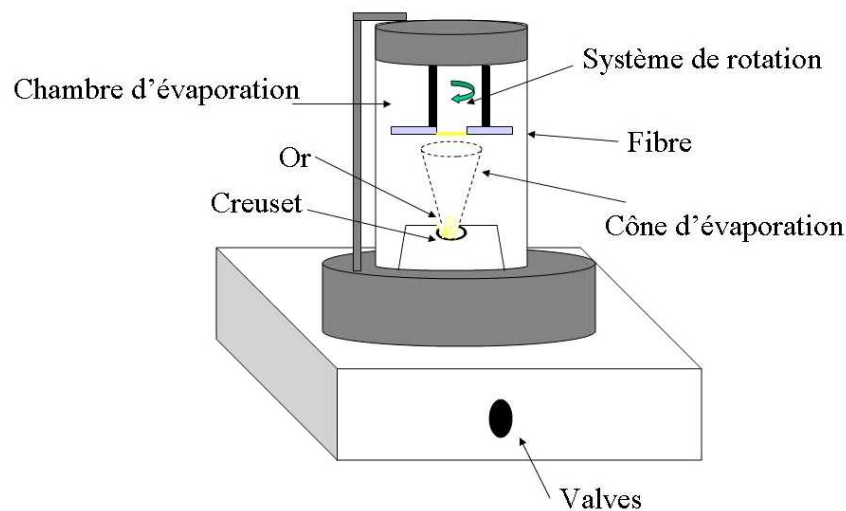


Figure III-1 : Schéma de principe de l'évaporation thermique utilisée dans ce travail.

Pour obtenir un film homogène, nous avons utilisé un système mécanique couplé à un moteur pas à pas (figure III-2) permettant la rotation de la fibre durant la phase de dépôt (fréquence de rotation de la fibre 0,5 Hz). L'évaporation du métal (l'or) est réalisée sous une pression d'environ 6.10^{-6} mbar, dans une enceinte en verre. La fibre est placée juste en face du creuset rempli d'évaporant (fils métalliques). Le creuset est chauffé par effet Joule (à haute intensité électrique) suivant la nature du substrat à évaporer (40A pour l'or). Il y a alors fusion puis évaporation ou sublimation du métal qui se dépose sur la zone dénudée de la fibre et sur les parois intérieures de l'enceinte de travail. La photo du dispositif est présentée sur la figure III-2.

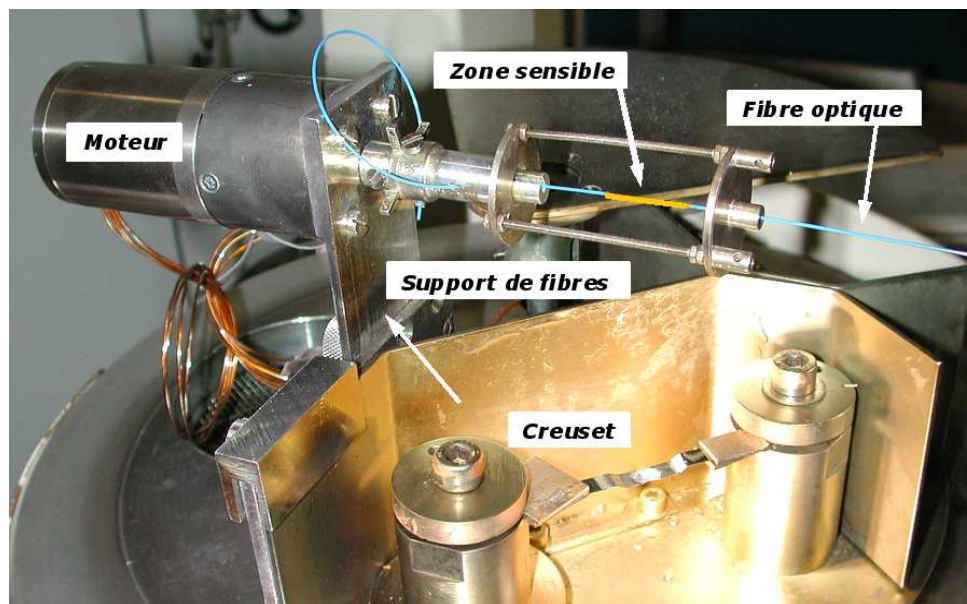


Figure III-2 : Photo du dispositif permettant la rotation de la fibre dans l'évaporateur

La vitesse de dépôt est modulée par l'intermédiaire de l'intensité fournie pour chauffer le creuset contenant le métal. L'épaisseur de la couche métallique dépend de la quantité d'or évaporée ainsi que de la distance entre le creuset rempli d'évaporat et la fibre optique (nous ne disposons pas de balance à quartz). Des lamelles en verre introduites et mises à proximité de la zone sensible permettent des études complémentaires des couches réalisées. Ces lames ont ainsi été utilisées pour des études de microscopie à force atomique (AFM), de profilométrie et d'ellipsométrie.

III-2-3 Description du montage expérimentale : procédure de mesure

Le dispositif expérimental est constitué d'une source de lumière blanche (lampe halogène au tungstène, HL-2000, Mikropack) branchée à la face d'entrée d'une fibre optique multimode plongée dans une cellule où une série de solutions eau/glycérol sera injectée (voir figures III-3 et III-4). Un spectromètre Ocean Optics (S2000 Miniature Fiber Optic Spectrometer) couplé à la fibre permet de mesurer la transmission de la lumière en sortant de la fibre. Notons que le spectromètre et son miroir de collimation sont réglés pour une valeur maximale d'ouverture numérique de 0,22, ce qui limite la prise en compte de l'ouverture numérique de la fibre optique dans nos simulations numériques.

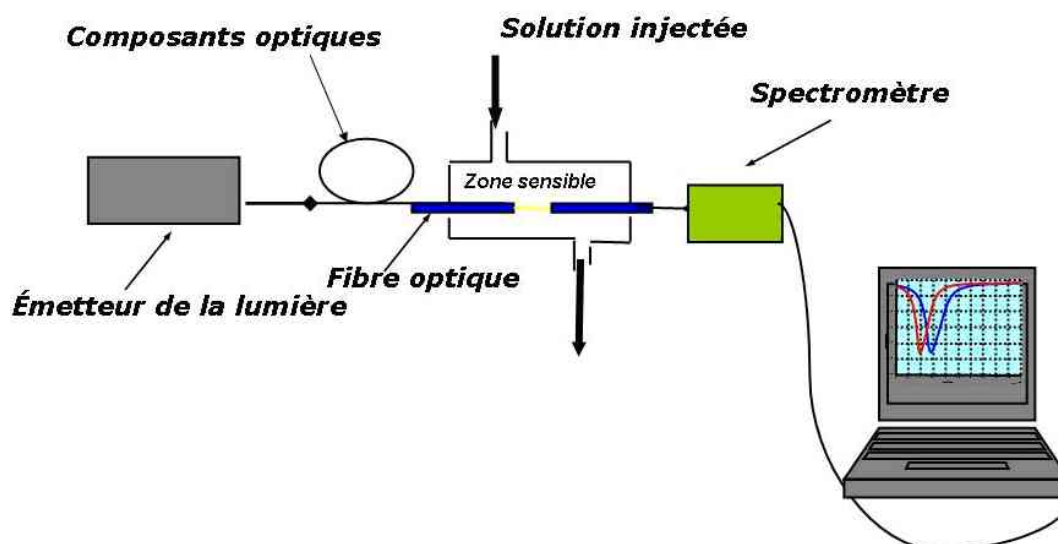


Figure III-3 : Schéma du montage expérimental

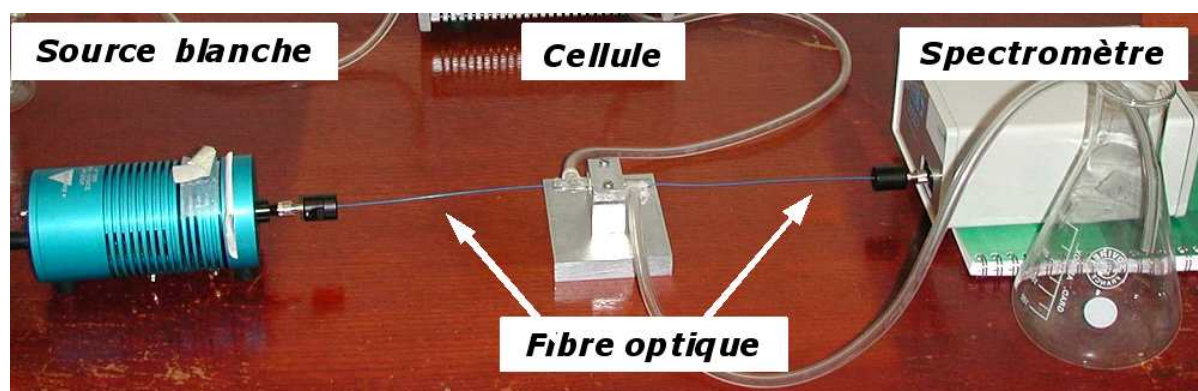


Figure III-4 : Photo du dispositif expérimental

Ce montage nous permet d'étudier la réponse du capteur en fonction de la longueur d'onde d'incidence (entre 550 et 1100nm) en faisant varier l'indice de réfraction de l'analyte injecté. Les indices de réfraction (n_s) de différentes solutions eau/glycerol (Aldrich) sont mesurés à 23°C avec un réfractomètre d'Abbé dont la résolution est de quelques 10^{-4} RIU (Refractive Index Unit).

Une fois la fibre prête, elle est connectée d'un côté à une source de lumière blanche et de l'autre côté au spectromètre après qu'elle soit placée dans la cellule de mesure. Ce montage décrit ci-dessus nous permet d'obtenir les courbes de transmission de la lumière à partir du rapport de l'intensité I mesurée en présence de l'analyte et de l'intensité de référence I_0 mesurée en l'absence de la solution (cellule vide).

Un exemple d'un spectre mesuré est présenté par la figure III-5. L'enregistrement de chaque spectre dure de 5 à 30 millisecondes. Le spectre final correspond à l'accumulation de 100 à 1000 enregistrements. Signalons que le « bruit électronique » a été enregistré au début de l'expérience et en absence de lumière (*Dark*). Il est ensuite soustrait du spectre final.

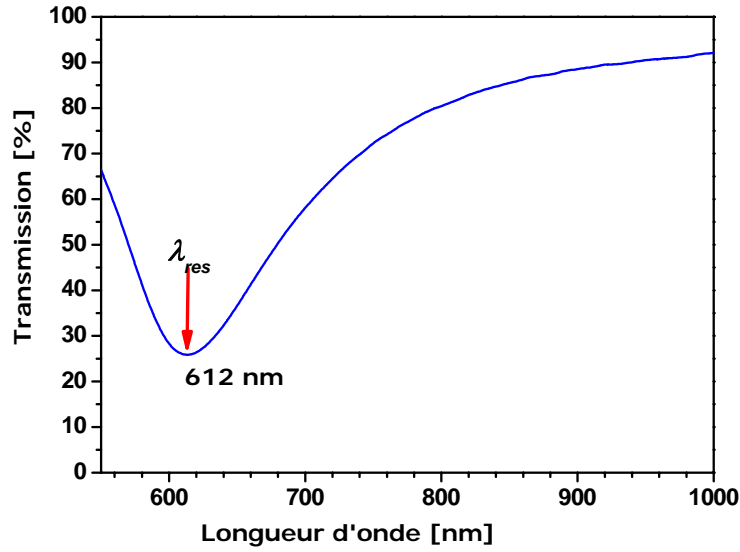


Figure III-5 : Réponse expérimentale d'un capteur à fibre optique ($NA=0,22$, longueur de la zone sensible $=20mm$) pour une couche d'or de 22 nm d'épaisseur, et pour un indice d'analyte de $n_s=1,3475$.

La position spectrale de la résonance des plasmons λ_{res} de surface se traduit par une chute d'intensité transmise, due à l'absorption de l'énergie incidente sur l'interface métal/analyte (Figure III-5). Comme nous l'avons précisé au chapitre II, la courbe observée correspond à une somme de pics de résonance associés aux conditions de résonance des plasmons de surface dans la fibre optique. Ce minimum correspond alors à la position moyenne en longueur d'onde des résonances plasmon de surface. Les variations en position de ce minimum peuvent nous informer sur la réponse de notre capteur en fonction de l'indice n_s de l'analyte. Notons que numériquement la transmission T correspond au rapport suivant :

$$T(\lambda) = \frac{P_{sens}(\lambda)}{P_{ref}(\lambda)} = \frac{\int_{\theta_{crit}}^{\pi/2} \left[(R_p^{sens})^N + (R_s^{sens})^N \right] P(\theta) d\theta}{\int_{\theta_{crit}}^{\pi/2} \left[(R_p^{ref})^N + (R_s^{ref})^N \right] P(\theta) d\theta} \quad (III-1)$$

où P_{sens} est la puissance de la lumière transmise calculée en présence de l'analyte et P_{ref} est la puissance transmise de référence (voir chapitre II).

III-2-4 Résultats

La procédure décrite ci-dessus nous permet d'obtenir la réponse spectrale de la fibre en fonction de la longueur d'onde pour une série de solutions de glycérol ayant différents indices. La figure III-6 montre les mesures effectuées avec une fibre optique ayant les caractéristiques suivantes : diamètre du cœur : $300\mu m$, partie sensible métallisée avec l'or sur $20mm$, une ouverture numérique du spectromètre de $0,22$. L'épaisseur du dépôt d'or a été évaluée par AFM, autour de 22 nm ($\pm 2nm$). Les courbes présentées

correspondent à une série d'indice de différentes solutions eau/glycérol. Rappelons que les indices de réfraction sont systématiquement vérifiés à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé.

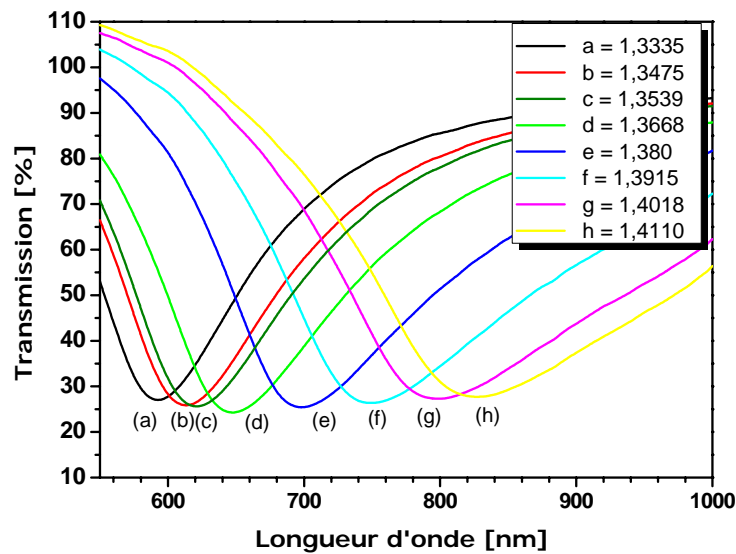


Figure III-6 : Réponses spectrales d'un capteur à fibre optique ($N_a=0,22$, longueur de la zone sensible : 20mm) avec une couche d'or de 22 nm pour une gamme d'indice comprise entre 1,335 et 1,4110. (a) 1,3335 ; (b) 1,3485 ; (c) 1,3539 ; (d) 1,3668 ; (e) 1,380 ; (f) 1,3915 ; (g) 1,4018 ; (h) 1,4110.

Les courbes de transmission ainsi obtenues à travers une fibre optique traduisent l'excitation de plasmon de surface du métal. Nous remarquons que les longueurs d'ondes de résonance augmentent avec l'indice du milieu n_s (figure III-7). Nous remarquons aussi qu'une variation de l'indice du milieu entraîne une modification de l'allure du pic de résonance. Ce qui nous donne une indication sur l'évolution de la sélectivité et de la précision du capteur.

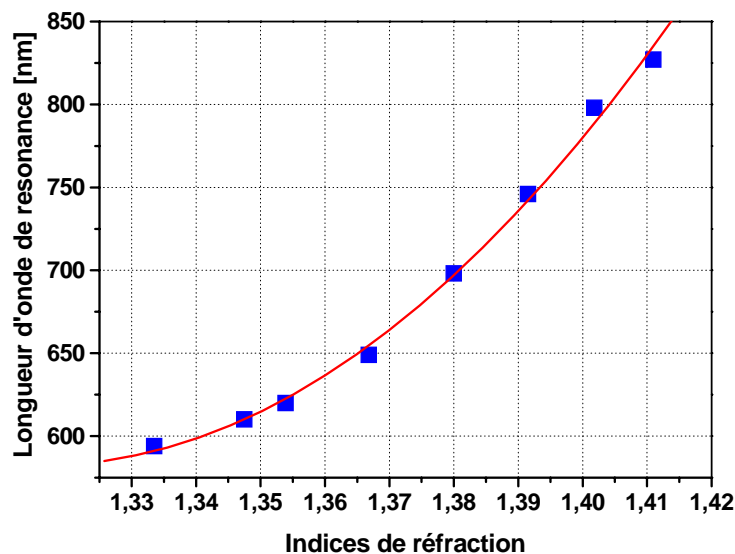


Figure III-7 : Variation de la longueur d'onde de résonance en fonction de l'indice de réfraction n_s : valeurs obtenues à partir de figure III-6.

Ces résultats seront comparés avec les résultats de simulations numériques dans la suite de ce chapitre.

III-3 Caractérisations topologiques de la couche métallique

Les couches métalliques déposées sur les fibres optiques ont préalablement été caractérisées afin de trouver les paramètres caractéristiques (épaisseur, rugosité) qui seront introduits par la suite dans les simulations numériques. La prise en compte de la rugosité dans les simulations sera développée dans la section III-4.

III-3-1 Mesure de l'épaisseur

L'épaisseur des couches déposées sur les fibres optiques a été mesurée par microscopie à force atomique (*AFM-VEECO-Nanoscope IIIa*) en mode contact (*C-AFM*). Le profil des hauteurs appliqué à l'image *C-AFM* nous permet de calculer une épaisseur moyenne sur la zone encadrée de la couche métallique de la fibre optique figure III-8. Parallèlement, pour les études de la fonction diélectrique du métal par mesure ellipsométrique, nous avons positionné des lames de verre à proximité de la zone sensible de la fibre optique.

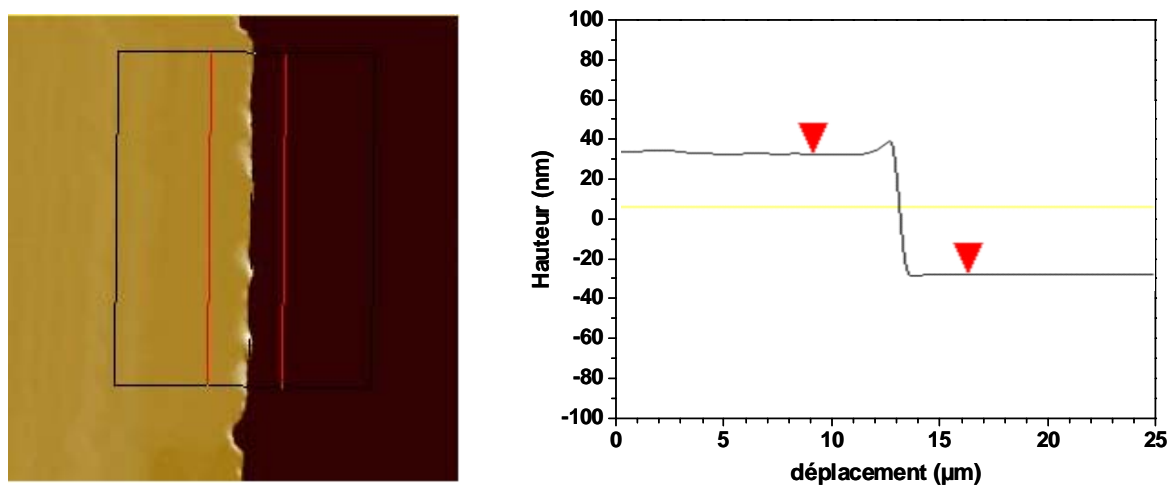


Figure III-8 : Image AFM d'une marche (métal / silice de la fibre) et figure de droite, profil moyenné des hauteurs.

Pour les études d'ellipsométrie, les épaisseurs du métal déposé sont évaluées par profilométrie (figure III-9). Les résultats de quelques mesures sont reportés dans le tableau III-1.

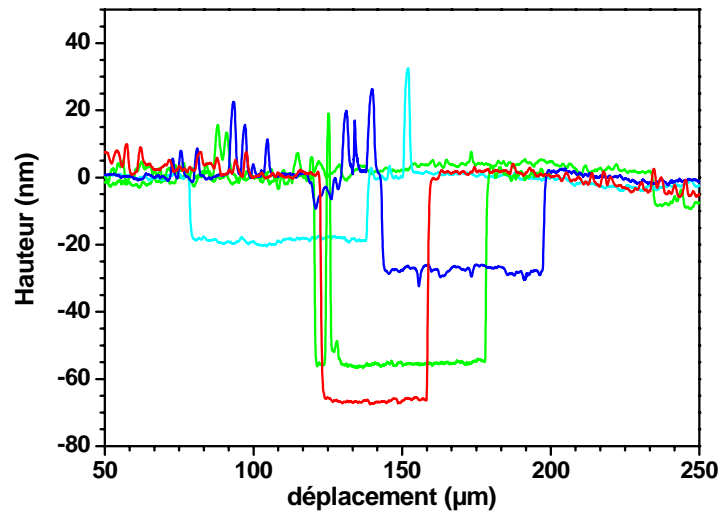


Figure III-9 : Mesure d'épaisseur réalisée avec le profilomètre Veeco Dektak 8.

Tableau III-1 : Epaisseurs mesurées avec le profilomètre pour différents échantillons.

Quantité déposée (mg)	Epaisseur (nm)
8	$10 \pm 2\text{nm}$
23	$18 \pm 2\text{nm}$
25	$28 \pm 1\text{nm}$
72	$55 \pm 2\text{nm}$
75	$68 \pm 2\text{nm}$

Les valeurs trouvées sont ensuite intégrée dans les simulations numériques pour être plus près de l'épaisseur de la couche réelle.

III-3-2 Etat de la surface

La figure III-10 présente deux images enregistrées en mode contact intermittent (*TM-AFM*) d'une surface d'or déposée. Ces images nous montrent que l'or déposé par évaporation thermique et à température ambiante présente une topographie de type granulaire en surface.

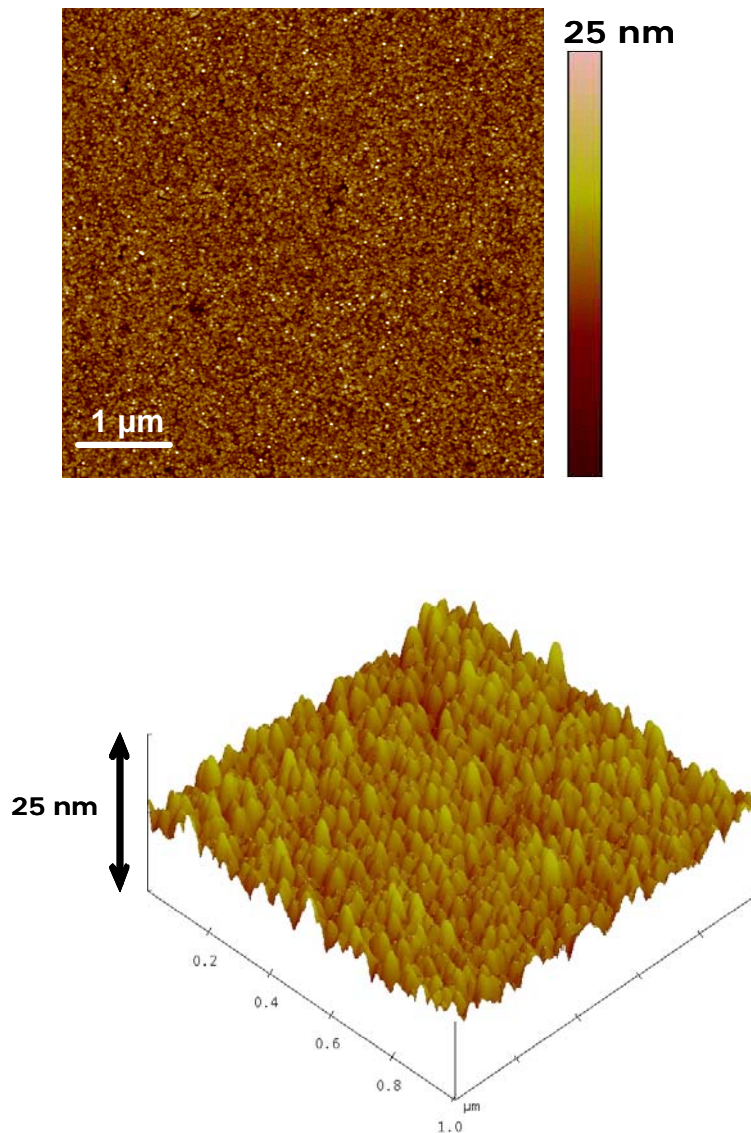


Figure III-10 : Image (TM-AFM) de la surface d'une couche d'or montrant le caractère granulaire de la couche (en haut image 5x5μm, en bas représentation 3D d'une image 1x1μm).

L'homogénéité du dépôt a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB). La figure (III-11 a et b) présente l'état de surface de deux films métalliques obtenus avec des conditions de dépôt thermique différents. Les courbes SPR obtenus avec une fibre optique dont la couche métallique a un état de surface homogène (figure III-12) sont plus prononcées en absorption et moins larges que celles obtenus avec une fibre optique ayant une couche métallique non-homogène (gros grains, fissures). La présence de trous et de craquelures (figure III-11b) réduit l'intensité de la lumière injectée dans la fibre et par conséquent, la performance du capteur diminue.

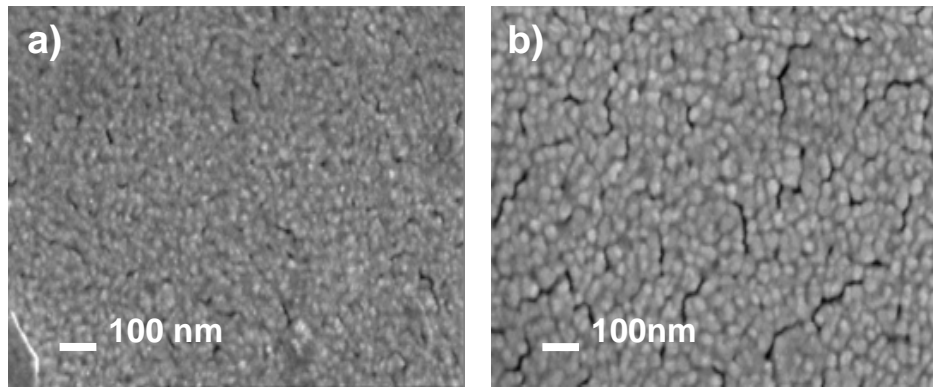


Figure III-11 : Micrographie MEB d'une fibre métallisée par évaporation thermique :(a) cas d'un film d'or homogène (b) cas d'un film non-homogène.

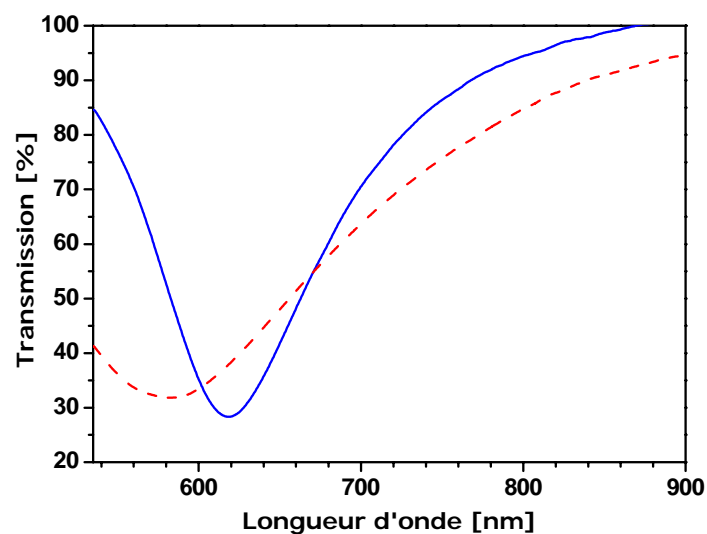


Figure III-12 : Réponse spectrale d'un capteur fibre optique :(ligne continue) avec un film d'or homogène (ligne discontinue) avec un film d'or non homogène.

A partir de ces caractérisations, nous pouvons conclure que la croissance de la couche ainsi que ses paramètres intrinsèques (épaisseur, rugosité et porosité) dépendent des conditions de dépôt (pression, vitesse du dépôt et distance entre le creuset et la fibre). Ceci à nécessiter de les contrôler et de les vérifier après la métallisation de chaque fibre.

III-4 Mesures et simulation de la rugosité

A partir des analyses précédentes, il est apparu qu'à des échelles nanométriques nos surfaces n'étaient pas lisses ce qui pouvait justifier des décalages entre nos résultats expérimentaux et numériques. En effet, depuis les années 1970, il est bien connu que la rugosité de la surface joue un rôle important sur la propagation des plasmons de surface [1-2].

En effet, la présence d'une rugosité à l'interface métal / diélectrique va engendrer une modification des conditions de couplage et par la suite une variation de la réflexion [1].

Cet effet est en particulier exploité dans la spectroscopie Raman sous le nom *SERS* (*surface enhanced Raman scattering*) et par les rugosimètres optiques.

Dans cette section, nous décrirons les deux approches que nous avons envisagées pour caractériser et quantifier la rugosité de la couche métallique déposée sur la zone sensible de la fibre optique. La première approche consiste à introduire un terme Δk_{rug} obtenu par la mesure de la densité spectrale de puissance *DSP* comme un terme de correction dans la relation de couplage plasmon de surface présentée au chapitre I

$$\sqrt{\epsilon_p} \frac{\omega}{c} \sin \theta = k_{sp} \pm \Delta k_{rug} \quad (III-2)$$

La seconde approche consiste à intégrer la rugosité dans le modèle multicouche comme une couche supplémentaire constituée de deux milieux ayant des fractions volumiques différentes. L'épaisseur de la pseudo-couche est donnée par la rugosité, qui est estimée par une étude statistique alors que La fonction diélectrique effective est exprimée en fonction des fractions volumiques des deux milieux et de leur constante diélectrique respective. Pour décrire cette fonction selon la disposition des deux constituants, nous introduisons, le concept de milieu effectif et la définition de la fonction diélectrique suivant les théories classiques des milieux hétérogènes.

III-4-1 Mesure de la densité spectrale de puissance

Dans ce travail, nous avons étudié la rugosité de la surface comme *Reather* l'a exploité [1,3], par la mesure de la densité spectrale de puissance *DSP* « appelée également spectre de rugosité » (*PSD* en anglais pour *Power Spectral Density*).

Cette dernière exprimée dans l'espace réciproque représente la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation de la surface étudiée.

A partir d'un profil de surface mesuré le long d'une ligne **L**, on peut définir une ligne de surface moyenne comme origine de variation de hauteur **Z** (figure III-13). Notons que cette variation de hauteur est mesurée perpendiculairement à la ligne **L** dans les directions $\pm Z$. Mathématiquement, la ligne moyenne est donnée par :

$$\sum_{i=1}^N Z_i = 0 \quad (III-3)$$

On peut donc définir la rugosité δ d'une surface comme l'écart quadratique moyen de celle-ci par rapport à cette ligne moyenne. Cette rugosité (*Ra*) s'écrit ainsi :

$$\delta = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N Z_i^2} \quad (III-4)$$

et la fonction d'autocorrélation pour un profil de surface de deux dimensions par:

$$h(r_k) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N-k} Z_i Z_{i+k} \quad \text{avec } (k=0,1,\dots,N-1). \quad (\text{III-5})$$

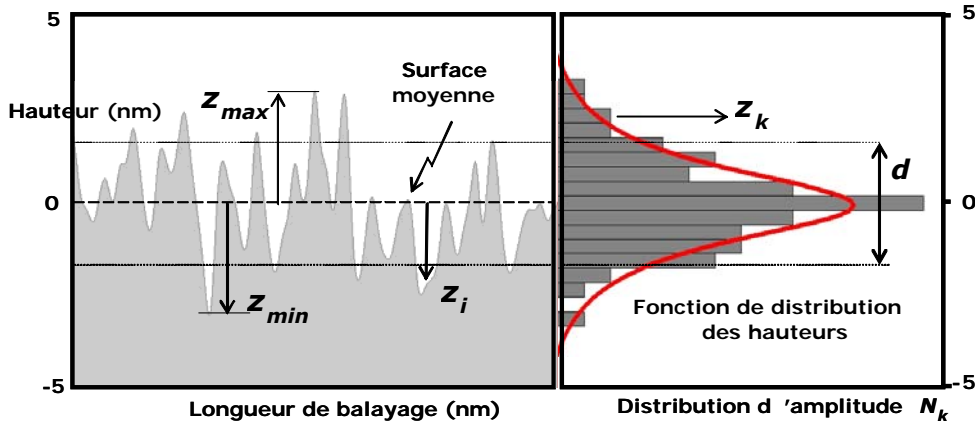


Figure III-13 : Un profil d'une surface rugueuse et son histogramme des hauteurs.

Cette fonction donne une indication sur la similitude de deux profils de surface décalés l'un par rapport à l'autre. Notons que si l'on considère la valeur à l'origine r_0 (0,0) de la fonction d'autocorrélation, cette valeur particulière n'est autre que le carré de la rugosité soit :

$$h(r_0) = \delta^2 \quad (\text{III-6})$$

La fonction d'autocorrélation permet donc de caractériser entièrement la rugosité superficielle. En effet, à partir de la théorie de diffusion de la lumière, on montre que la *DSP* est liée à la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation de la surface par la relation suivante :

$$\frac{1}{2\pi} \int_F \vec{dr} \times e^{i2\pi \vec{\Delta k} \cdot \vec{r}} \cdot h(\vec{r}) = DSP(\vec{\Delta k}) \quad (\text{III-5})$$

où $\vec{r} = (x, y)$ et $\vec{\Delta k} = (\Delta k_x, \Delta k_y)$ est la fréquence spatiale de la surface.

Cette dernière relation donne la densité spectrale de puissance de la surface qui présente le spectre de toutes les fréquences spatiales (Δk) de la surface.

Généralement, la fonction d'autocorrélation d'une surface périodique est donnée par la forme gaussienne suivante :

$$h(r) = \delta \exp\left(-\frac{r^2}{\sigma^2}\right) \quad (\text{III-8})$$

avec σ la longueur de la corrélation

Dans ce cas, la densité spectrale est donnée par :

$$DSP(\Delta k) = \frac{1}{4\pi} \sigma^2 \delta^2 \exp\left(-\frac{\sigma^2 (\Delta k)^2}{4}\right) \quad (\text{III-9})$$

Finalement, à partir d'un graphe en échelle logarithmique, on peut alors trouver la valeur de la rugosité δ pour chaque Δk de la surface.

Dans notre projet, pour déterminer Δk_{rug} une analyse de la corrugation de la surface a été menée sur le profil obtenu par *AFM*.

Le profil d'une surface rugueuse peut être représenté par une série infinie d'ondes sinusoïdales ayant différentes amplitudes, fréquences et phases. Nous avons donc proposé que la corrugation de la surface soit la superposition d'une multitude de réseaux de pas différents. Rappelons que l'image *TM-AFM* d'une surface est en réalité une série de points discrets équidistants (512 X 512 points dans notre cas). La mesure de la *DSP* consiste alors à décomposer, par la transformée de Fourier, la rugosité de la surface en un ensemble d'ondes sinusoïdales. On associe à chaque composante une densité, que l'on appelle « densité de puissance » (figure III-14).

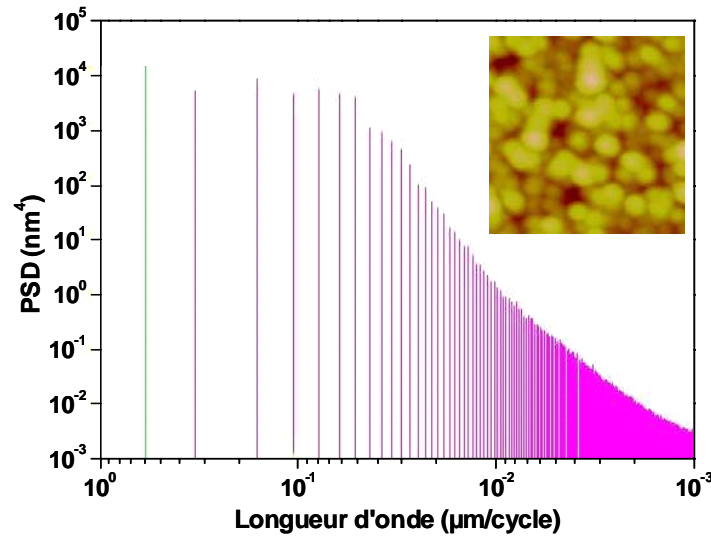


Figure III-14 : Densité de puissance (*DSP*) obtenue pour chaque longueur d'onde des composantes sinusoïdales formant l'image *TM-AFM*.

Pour déterminer la *DSP* à partir des données *AFM* nous avons utilisé le programme *FFT* (*Fast Fourier transform program*). La figure III-14 présente la *DSP* obtenue pour une gamme de longueur d'onde comprise entre 0,5 et 10^{-3} μm . À partir des valeurs de *DSP*, nous pouvons déterminer les fréquences spatiales (Δk) suivi de tous les pas de réseaux constituant la surface. La figure III-15 nous montre que les grandes valeurs de *DSP* sont obtenues pour une gamme de fréquence spatiale (Δk) comprises entre 0,5 et $1 \mu\text{m}^{-1}$, correspondant à des valeurs de vecteur d'onde Δk_{rug} comprises entre 3 et $6 \mu\text{m}^{-1}$.

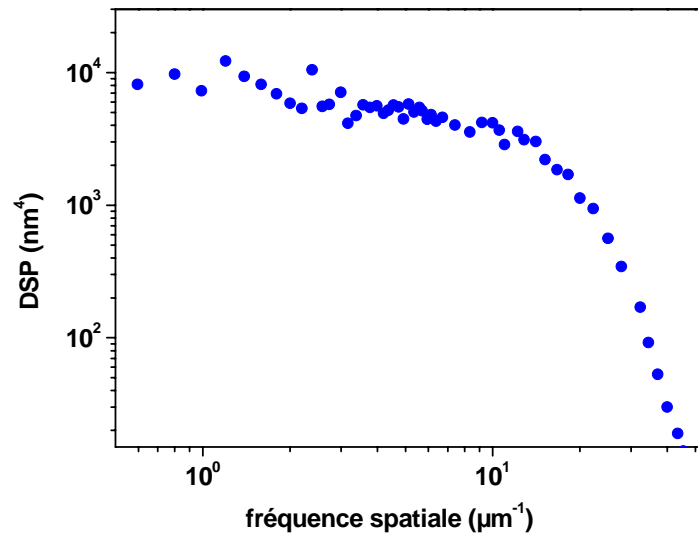


Figure III-15: DSP en fonction de la fréquence spatiale déterminée à partir du traitement FFT des images de topographie AFM (figure III-10).

Ce travail nous a permis de déterminer une valeur expérimentale de Δk_{rug} que nous avons introduit dans notre modèle numérique à partir de l'équation III-2 et des formules du chapitre II. Ce modèle nous permet de déterminer l'influence de la rugosité sur la position du pic de résonance et sur sa forme (figure III-16 et 17). En particulier, la figure III-17 nous montre que nous pouvons prévoir les déplacements du pic de résonance des plasmons pour des rugosités supérieures à 100 nm.

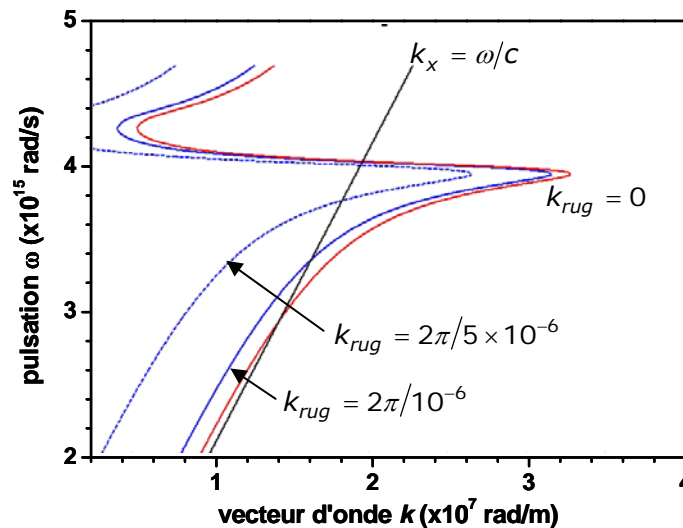


Figure III-16 : Courbe de dispersion des plasmons de surface en fonction de Δk_{rug} . Ces courbes confirment l'évolution de la résonance en fonction de la rugosité pour des grandes fréquences spatiales.

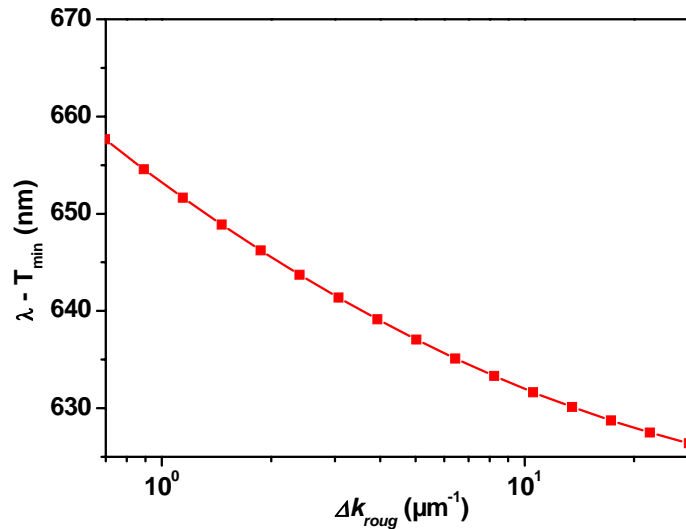


Figure III-17 : Simulation numérique de la longueur d'onde de résonance en fonction de Δk_{roug} .

Par contre, ce modèle ne permet pas d'interpréter l'effet de rugosité dont le pas est inférieur à 100nm. Ceci n'est pas totalement surprenant car l'approche par la *DSP* a surtout été développée pour interpréter la diffusion de la lumière par des surfaces rugueuses, présentant plutôt des rugosités micrométriques. D'autre part, cette méthode s'est avérée difficile à implémenter dans notre modèle dès lors que nous ne réalisions pas une modélisation par la méthode (l'approximation) de *Kretschmann-Raether*.

Pour prendre en compte des rugosités inférieures à 100nm, nous nous sommes alors intéressés à la théorie de Maxwell-Garnett, basée sur le calcul des milieux et indices effectifs.

III-4-2 Concept de milieu effectif

La définition d'un milieu effectif est très complexe, elle n'est pas unique car elle dépend de la propriété à étudier. En ce qui nous concerne, dans un régime de propagation de la lumière non diffusif (par opposition au modèle précédent), et pour un matériau hétérogène (caractérisé par un grand nombre de paramètres), on peut définir un milieu dit effectif. Ce milieu possède alors les mêmes propriétés optiques (absorption, réflexion et transmission) que le matériau hétérogène qu'il doit remplacer. On peut donc en associer une caractéristique unique, plus fondamentale : la fonction diélectrique effective (figure III-18 a). L'intérêt de ce concept réside en particulier dans la simplification du nombre de paramètres caractéristiques du milieu. Mais dans un régime diffusif, ce concept perd de son intérêt car il y a une perte d'information liée à une forte réduction du nombre de paramètres (figure III-18 b).

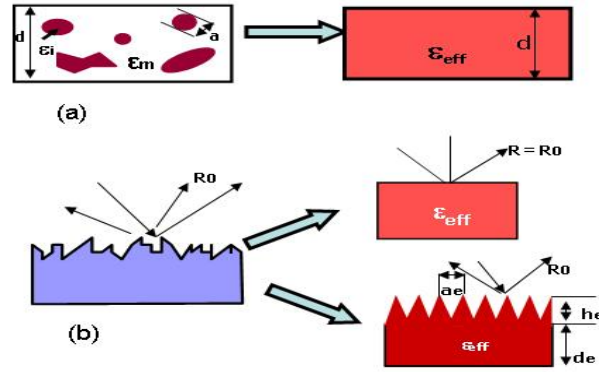


Figure III-18 : Concept du milieu effectif : (a) définition classique (deux paramètres caractéristiques d et ϵ_{eff}). (b) illustration de la perte importante d'information dans le cas de surfaces diffusives.

III-4-3 Fonction diélectrique effective : Relation de Clausius-Mossotti

Il y a plusieurs approches qui sont utilisées pour définir la fonction diélectrique d'un milieu effectif, une de ces approches est basée sur le calcul du champ local de chaque inclusion.

La fonction diélectrique d'un milieu effectif est définie par la relation (III-10) entre le déplacement électrique \mathbf{D} qui dépend de la polarisation \mathbf{P} dans le matériau et du champ électrique \mathbf{E} :

$$\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P} = \epsilon_{eff} \mathbf{E} \quad (III-10)$$

d'où

$$\mathbf{P} = (\epsilon_{eff} - \epsilon_0) \mathbf{E} \quad (III-11)$$

La polarisation \mathbf{P} est définie comme la somme de tous les moments multipolaires induits. Elle peut donc être reliée à la polarisabilité qui est une caractéristique des constituants microscopiques du milieu. Si l'on considère que les moments multipolaires d'ordre supérieur à deux sont négligeables, la relation entre la polarisation (dipolaire) \mathbf{P} et la polarisabilité (α) s'écrit sous la forme suivante :

$$\mathbf{P} = \sum_k N_k \alpha_k (\mathbf{E}_l)_k \quad (III-12)$$

où la sommation s'effectue sur les différents types de dipôles. N_k représente le nombre de dipôles k par unité de volume et \mathbf{E}_l le champ inducteur local qui polarise le dipôle. Cette relation permet de lier les caractéristiques microscopiques (α_k) et macroscopiques du milieu. En remplaçant (III-11) dans (III-12), on obtient :

$$(\epsilon_{eff} - \epsilon_0) \mathbf{E} = \sum_k N_k \alpha_k (\mathbf{E}_l)_k \quad (III-13)$$

Cette relation permet de relier le champ macroscopique appliqué \mathbf{E} et le champ inducteur local \mathbf{E}_l , et par conséquent, on peut obtenir une relation entre ϵ_{eff} , une grandeur macroscopique caractéristique du milieu, et α_k caractérisant ses constituants

élémentaires. Par contre, il n'est pas évident de trouver une relation entre les grandeurs macroscopiques et microscopiques de la matière. Ce problème physique est d'une grande complexité et nécessite plusieurs approximations qui peuvent s'avérer non satisfaisantes selon les applications. Pour cela, on suppose que l'équation (III-13) est aussi bien valable pour les atomes et des molécules que pour les inclusions dont la taille est de plusieurs Angstrom d'un matériau (\mathbf{k}) caractérisé par sa fonction diélectrique $\epsilon_{\mathbf{k}}$. Pour cela, il faut que la relation linéaire (III-10) soit encore valable. On suppose alors que : (i) l'approximation dipolaire est valable pour les inclusions et les atomes ce qui limite les formes acceptables pour celle-ci et (ii) le champ soit uniforme sur le dipôle, ce qui impose de grandes tailles pour les inclusions (approximation quasi-statique). Dans ces conditions, la relation (III-13) est écrite sous la forme suivante :

$$(\epsilon_{eff} - \epsilon_0)E = \sum_k N_k \alpha_k (E_m)_k \quad (III-14)$$

où N_k représente maintenant le nombre d'inclusions \mathbf{k} par unité de volume, (α_k) leur polarisabilité et $(E_m)_k$ le champ inducteur sur l'inclusion \mathbf{k} . (α_k) est relié à la fonction diélectrique du matériau \mathbf{k} par la relation suivante :

$$(\epsilon_k - \epsilon_0)E = N a_k \alpha_k (E_l)_k \quad (III-15)$$

ou $N a_k$ est le nombre d'atomes \mathbf{k} par unité de volume du matériau et $(E_l)_k$ le champ local dans le matériau pur \mathbf{k} . En reportant (III-15) dans (III-14), on obtient :

$$(\epsilon_{eff} - \epsilon_0) = \sum_k \frac{N a_k}{N_k} (\epsilon_k - \epsilon_0) \frac{(E_m)_k}{(E_l)_k} \quad (III-16)$$

où $N a_k / N_k$ est égal à la fraction volumique f_k occupée par le matériau \mathbf{k} dans le composite. Il suffit maintenant d'établir une relation entre le champ mésoscopique (intermédiaire) $(E_m)_k$ polarisant l'inclusion et le champ microscopique $(E_l)_k$ polarisant ses atomes. L'approche théorique de ce problème consiste à calculer le champ local au niveau de chaque inclusion et nécessite un passage par l'état mésoscopique de la matière. D'après Lorentz (1880), le champ local (E_l) et le champ appliqué (E) sont liés par :

$$E_l = E + \frac{p}{3\epsilon_0} = \frac{2\epsilon_0 + \epsilon}{3\epsilon_0} E \quad (III-17)$$

Notons que le modèle du champ local de Lorentz n'est valable que dans le cas des matériaux non polaires et pour des particules de forme sphérique.

En substituant (III-17) dans (III-13), on obtient alors l'équation de Clausius-Mossotti :

$$\frac{(\epsilon - \epsilon_0)}{(\epsilon + 2\epsilon_0)} = \frac{1}{3\epsilon_0} \sum_k N_k \alpha_k \quad (III-18)$$

L'équation (III-18) relie le champ local et le champ appliqué par la fonction diélectrique ϵ , et dans le cas d'inclusion, on peut donc adapter la relation de Clausius-Mossotti successivement du microscopique au mésoscopique, ce qui est son cadre initial, puis du mésoscopique au macroscopique, ce qui peut être applicable si les conditions de linéarité sont toujours valables. Par suite, la fonction diélectrique du milieu effectif est donnée par :

$$\frac{(\epsilon_{eff} - \epsilon_0)}{(\epsilon_{eff} + 2\epsilon_0)} = \frac{1}{3\epsilon_0} \sum_k N_k \alpha_k \quad (III-19)$$

où (α_k) est déterminé par l'équation de Clausius-Mossotti (III-18), alors l'équation (III-19) prend la forme suivante :

$$\frac{(\epsilon_{eff} - \epsilon_0)}{(\epsilon_{eff} + 2\epsilon_0)} = \sum_k f_k \frac{(\epsilon_k - \epsilon_0)}{(\epsilon_k + 2\epsilon_0)} \quad (III-20)$$

où ϵ_{eff} est la fonction diélectrique du milieu effectif d'inclusions (sphériques) dont chaque inclusion a sa propre fonction diélectrique ϵ_k et immerge dans le vide.

À partir de cette relation unique, on peut alors retrouver toutes les théories classiques qui définissent la fonction diélectrique du milieu effectif : il suffit donc pour chacune de ces théories de définir un milieu hôte (matrice) dans lequel sont immergés tous les autres composants.

III-4-4 Théories des milieux effectifs: application à la rugosité de la surface

Parmi les théories des milieux effectifs, deux d'entre elles sont les plus utilisées pour définir la fonction diélectrique effective d'un mélange d'inclusions : la théorie de Maxwell-Garnett et celle de Bruggemann [4-6].

La théorie de Maxwell-Garnett établie en (1904) est dérivée de l'équation de Clausius-Mossotti. Elle est basée sur l'hypothèse que l'ensemble des inclusions isolées forme un dipôle unique, isolé et totalement immergé dans un milieu hôte (matrice) dont la polarisabilité est la somme des polarisabilités individuelles. Dans le cas où les inclusions sont réparties uniformément, la constante diélectrique du milieu effectif est exprimée par la formule :

$$\epsilon_{eff} = \epsilon_h \cdot \frac{[(1 + 2f)\epsilon_i + 2\epsilon_h(1 - f)]}{[(1 - f)\epsilon_i + (2 + f)\epsilon_h]} \quad (III-21)$$

avec ϵ_h la constante diélectrique du milieu hôte, ϵ_i ($i=1,2,..$) la constante diélectrique de chaque inclusion et f la fraction volumique des inclusions. Ce modèle n'est à priori valable que pour des inhomogénéités de formes granulaires en faible fraction volumique.

La seconde théorie dit théorie de champ moyen a été proposée par Bruggemann en 1935 : il s'agit d'une approximation du milieu effectif. Dans ce modèle, l'hypothèse d'un milieu hôte n'existe pas, contrairement à la théorie de Maxwell-Garnett. Toutes les inclusions sont traitées de façon équivalente en considérant qu'elles baignent dans le milieu effectif de fonction diélectrique ϵ_{eff} , ce qui signifie une symétrie totale du rôle des inclusions comme l'indique la formule de Bruggemann exprimée par :

$$\sum_i f_i \frac{\epsilon_i - \epsilon_{eff}}{\epsilon_i + 2\epsilon_{eff}} = 0 \quad (III-22)$$

En pratique le modèle de Bruggemann est largement utilisé car il est généralement difficile de définir quel composant constitue le milieu hôte (matrice).

Dans le cadre de notre étude, et afin d'établir un moyen pour intégrer la rugosité dans les simulations numériques, nous avons défini la rugosité dans le système multicouche comme une couche supplémentaire constitué de deux milieux (le métal et l'analyte). En choisissant le métal comme un milieu hôte dans lequel est immergé le composant diélectrique. La formule de Maxwell-Garnett peut donc exprimer la constante diélectrique ϵ_{eff} de la pseudo-couche en fonction de q , la fraction volumique du métal ($q=1-f$), ϵ_m et ϵ_s qui représentent les constantes diélectriques du métal et du milieu diélectrique, respectivement (figure III-19):

$$\epsilon_{eff}(\omega) = \epsilon_m(\omega) \frac{[(3-2q)\epsilon_s + 2q\epsilon_m(\omega)]}{[q\epsilon_s + (3-q)\epsilon_m(\omega)]} \quad (III-23)$$

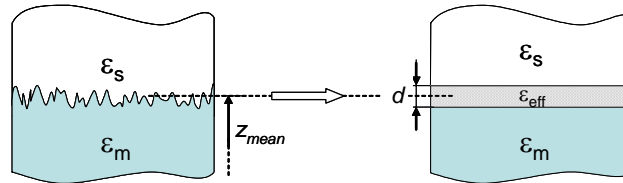


Figure III-19 : Définition de la pseudo-couche selon le modèle de Maxwell-Garnett

Pour calculer la fonction diélectrique ϵ_{eff} , une étude statistique menée sur l'image (TM-AFM) (exemple figure III-10) nous permet de déterminer, tout d'abord, l'épaisseur d de la pseudo-couche et ensuite la fraction volumique de métal q .

La figure III-20 nous montre la fonction de distribution de la hauteur moyenne z , pour un profil de surface donné par l'image AFM de la figure III-10.

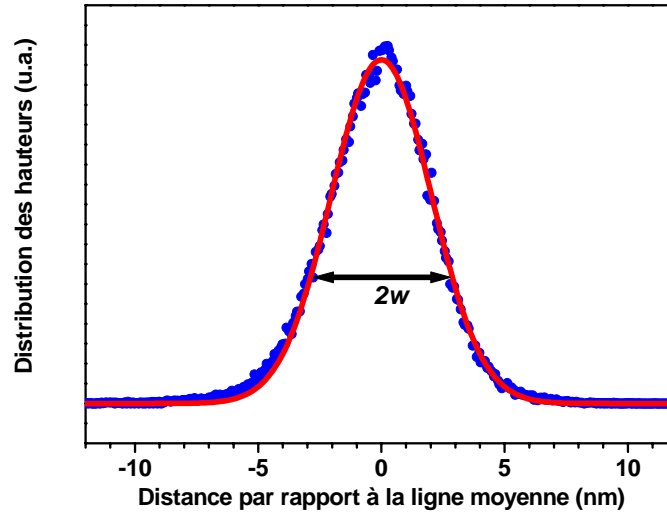


Figure III-20: La fonction de distribution de la hauteur moyenne : par convention, la largeur ($2w$) définit l'épaisseur de la couche à $1/e$ de la hauteur maximale.

Dans le cas général, la fonction de distribution a une forme Gaussienne donnée par l'équation suivante [3] :

$$G(z) = Ae^{-z^2/w^2} \quad (\text{III-24})$$

où A est l'amplitude (valeur de $G(z)$ pour $z=0$) et w est un paramètre ajustable correspondant à la valeur de z où $G(z)$ égale à $1/e$.

Notons que l'on peut montrer mathématiquement que pour une fonction de distribution de hauteur gaussienne (comme sur la figure III-20), $w^2=2\delta^2$ où δ est la rugosité moyenne (Ra) de la surface (équation III-4). Un ajustement numérique de la courbe de la fonction de distribution (figure III-20) nous permet d'estimer une valeur de w autour de 2,87nm et donc une épaisseur de la pseudo-couche de $2w = 5,75\text{nm}$.

Une étude statistique de la fonction de distribution (figure III-20) nous permet aussi de calculer la fraction volumique $q = 0,51$ à partir de l'équation suivante :

$$q_{\text{metal}} = \frac{1}{N(z_{\text{max}} - z_{\text{min}})} \sum_{k_{\text{min}}}^{k_{\text{max}}} [G(z_k)(z_{\text{max}} - z_{\text{min}})] \quad (\text{III-25})$$

Une fois les paramètres de la couche rugueuse équivalente (q, d) déterminés, la fonction diélectrique effective de la couche composite (métal/diélectrique) sera calculée et introduite dans notre modèle numérique. Ceci se fera précisément dans la formule matricielle du modèle de Fresnel qui donne la reflectance de la lumière pour quatre couches (cœur/métal/ pseudo-couche/analyte). Cette formule est utilisée pour calculer la puissance de la lumière transmise par notre capteur.

A partir des simulations numériques obtenues pour différentes valeurs de d et q , nous avons testé l'influence de la rugosité sur la réponse spectrale du capteur. La figure III-21 montre que pour une valeur fixe de q , la longueur d'onde de résonance ($\lambda_{rés}$) augmente avec l'épaisseur de la pseudo-couche. Le même effet est observé pour différentes valeurs de q , tandis que la sensibilité ($\Delta\lambda/\Delta d$) varie de 7 (pour $q = 0,6$) à 11 (pour $q = 0,4$).

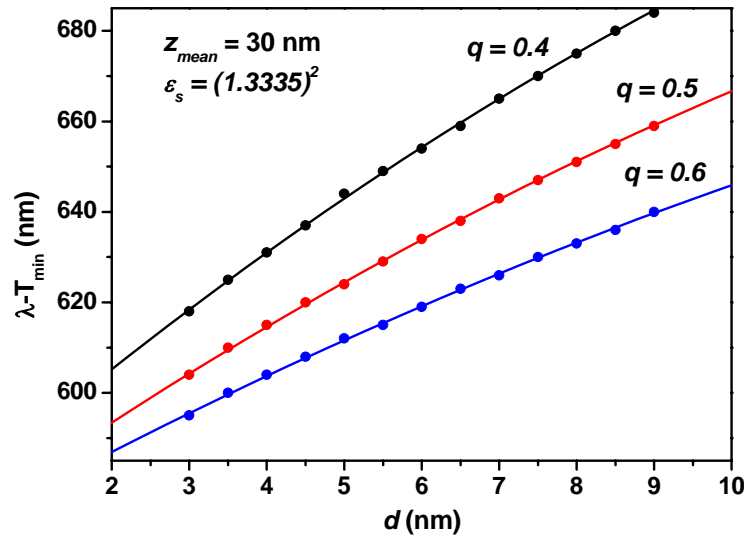


Figure III-21 : Simulations numériques de $\lambda_{rés}$ en fonction de l'épaisseur de la pseudo-couche pour différentes valeurs de la fraction volumique q .

Par contre, cette longueur d'onde de résonance diminue lorsque la fraction volumique du métal (q) augmente pour une même valeur d . Plus précisément, pour une valeur de d égal à 5,75 nm, la longueur d'onde de résonance varie de 654 nm (pour $q=0,4$) à 619 nm (pour $q=0,6$).

La figure (III-22 a et b) montre l'augmentation de la largeur à mi-hauteur ($FWHM$) des courbes de la puissance obtenues par la simulation avec la fraction volumique de milieu sensible ($1-q$) ainsi qu'en fonction de l'épaisseur de la pseudo-couche.

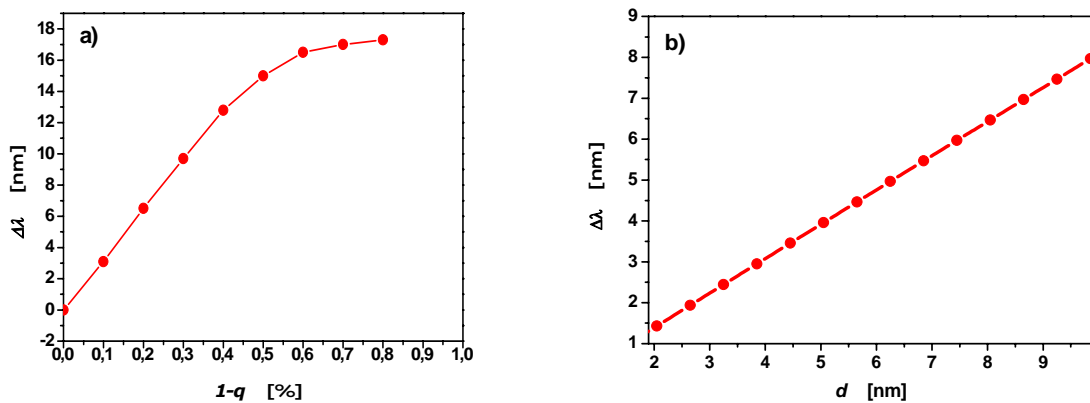


Figure III-22 : Simulations numériques de $\Delta\lambda_{rés}$ (nm) en fonction : (a) de la fraction volumique de milieu sensible ($1-q$), et (b) de l'épaisseur d de la pseudo-couche.

Finalement, ces simulations montrent clairement qu'il est possible de prévoir l'élargissement des courbes SPR par un traitement analytique et statistique de la rugosité de surface. D'où l'importance, d'intégrer la rugosité dans notre modèle numérique pour obtenir un accord entre les réponses simulées et les réponses expérimentales. Cependant, il faut bien noter qu'il sera difficile d'intégrer le cas d'une rugosité à grande échelle telle que les craquelures ou les trous. Notre approche tient compte, seulement, de la rugosité à une très petite échelle (micro).

III-5 Validation du modèle numérique et études paramétriques

III-5-1 Résultats numériques

Dans une première étape de simulation numérique, nous avons considéré que la couche métallique déposée sur la zone sensible est infiniment lisse. La figure III-23 présente les spectres simulés de la réponse spectrale d'un capteur SPR avec une fibre optique ayant les mêmes caractéristiques que celles utilisées pour les mesures expérimentales. Ces simulations obtenues avec une couche d'or infiniment lisse mettent en évidence des divergences entre la réponse expérimentale présentée sur la figure III-6 et la réponse numérique. Ces divergences concernent la position de la longueur d'onde de résonance ainsi que la largeur à mi-hauteur des bandes. Les raisons de ces divergences furent identifiées et réduites en prenant en compte la rugosité dans les simulations numériques.

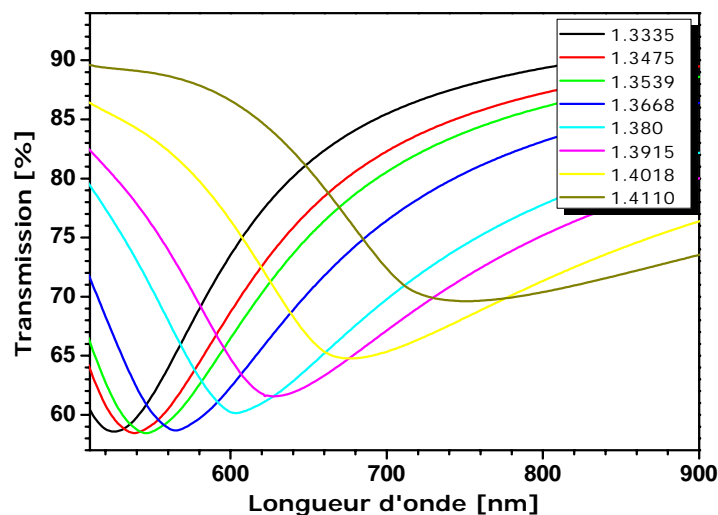


Figure III-23 : Simulations numériques de la réponse d'un capteur à fibre optique ($N_a=0,22$, diamètre= $300\mu m$, longueur de la zone sensible : $20mm$) avec une couche d'or de $22nm$ pour une gamme d'indice comprise entre $1,335$ et $1,4110$. La couche d'or est considérée infiniment lisse dans le modèle numérique.

La figure III-24 présente les courbes simulées qui ont été calculées en tenant compte de la rugosité, par l'introduction d'une couche supplémentaire caractérisée par les paramètres (q et d), entre le métal et le milieu diélectrique. Les courbes présentées sur

les figures III-23 et III-24 n'ont pas été normalisées. Une comparaison détaillée entre les résultats expérimentaux et les courbes simulées sera présentée dans la section suivante.

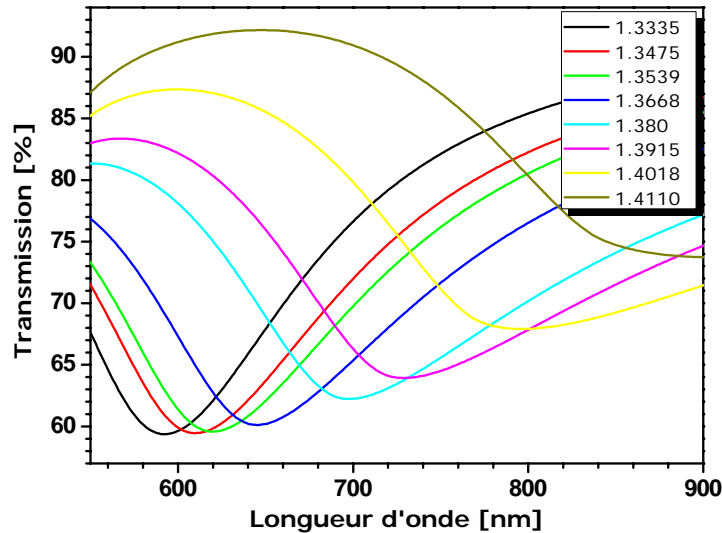


Figure III-24 : Simulations numériques de la réponse d'un capteur à fibre optique ($N_a=0,22$, diamètre= $300\mu m$, longueur de la zone sensible: $20mm$) avec une couche d'or de 22 nm pour une gamme d'indice comprise entre $1,335$ et $1,4110$. Les paramètres de la rugosité mesurée sont : $q=0,51$ et $d=5,75nm$.

La valeur de l'épaisseur de la couche d'or estimée par la mesure *AFM* est de 22 nm . Avec ces simulations, nous avons obtenu les courbes de la variation de la transmission en fonction de la longueur d'onde. Nous remarquons que la réponse du capteur pour une gamme d'indice comprise entre $1,3335$ et $1,4110$, correspond bien aux résultats expérimentaux présentés dans la section 2 de ce chapitre (figure III-6). Nous remarquons aussi qu'avec l'augmentation de l'indice (n_s), les pics deviennent de plus en plus larges en passant vers des longueurs d'ondes de résonance plus élevées. Ce qui implique une précision moins bonne pour les grandes valeurs d'indice.

III-5-2 Comparaison simulation et spectres expérimentaux

Les résultats expérimentaux (figure III-6) et ceux obtenus par les simulations numériques (fig III-24), nous montrent qu'il y a une différence au niveau de la valeur minimale de la transmission. Pour les résultats expérimentaux, ce minimum peut être inférieur à $0,5$ (selon l'épaisseur de la couche métallique). Ce résultat ne peut être obtenu avec notre modèle car nous avons toujours considéré que la résonance des plasmons de surface ne se produit que pour des rayons de polarisation- p , alors que pour la polarisation- s le phénomène ne se produit pas. Il est donc logique que notre modélisation soit toujours au moins de 50% de la lumière transmise. Des valeurs de transmission inférieures à 50% ont aussi été observées par *F.Bardin* [7], qui l'a associé à une conversion de polarisation - s en - p entre deux réflexions successives. En effet,

après une réflexion totale sur l'interface métal/cœur (interface non planeaire), une partie de l'onde polarisée $-s$ peut changer d'état de polarisation et se transformer en une onde $-p$, qui peut alors engendrer une résonance des plasmons de surface après une deuxième réflexion.

Une normalisation des résultats numériques et expérimentaux, nous permet alors de mettre les courbes au même niveau. La figure III-25 présente une comparaison entre la réponse expérimentale et les simulations numériques après l'implémentation de la rugosité et de la fonction diélectrique ajustée au chapitre II. Les résultats sont particulièrement fidèles et nous ne présentons, pour des raisons de clarté de la figure, que quatre valeurs différentes de n_s (1,335 ; 1,3668 ; 1,380 et 1,4018). L'accord est particulièrement bon, autant au niveau de la position du minimum d'absorption que de la forme générale de la bande. Nous remarquons un léger décalage au niveau de la largeur du pic que nous attribuons aux réflexions des rayons non méridionaux existant lors de nos mesures expérimentales, mais négligées dans notre modèle. Signalons que c'est à notre connaissance la première fois que des résultats expérimentaux et issus de modélisation sont réellement comparés dans la littérature des FO-SPR. A ce jour, plusieurs équipes ont publié soit des travaux expérimentaux, soit des travaux théoriques difficilement comparables aux expérimentations, mais aucune équipe n'a été jusqu'à présenter les deux études dans les mêmes conditions.

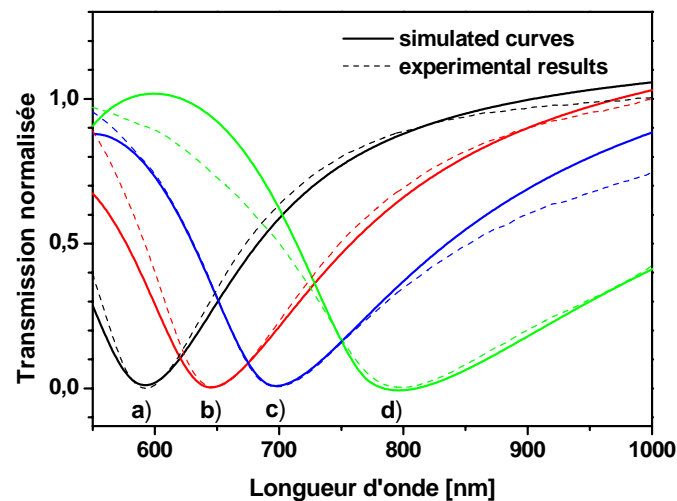


Figure III-25 : Comparaison entre la réponse numérique (ligne continue) et la réponse expérimentale (ligne discontinue) d'un capteur SPR à fibre optique avec une couche d'or d'épaisseur 22 nm pour 4 indices différents du milieu extérieur : a) 1,3335 (noir) ; b) 1,3668 (rouge), c) 1,380 (bleu) ; et d) 1,4018 (vert).

En conclusion, le modèle implémenté est pertinent et peut être utilisé pour étudier la réponse d'un capteur au lieu de mener des expérimentations. En d'autre terme, il est maintenant possible de simuler numériquement des données d'un capteur et de faire une optimisation des différents paramètres sans avoir systématiquement recours à des travaux expérimentaux.

III-5-3 Etude numérique de principaux paramètres

À partir des simulations numériques, il est maintenant possible de traiter l'influence de divers paramètres géométriques (diamètre du cœur, longueur de la zone sensible ainsi que l'épaisseur de la couche métallique...) et physiques (constante diélectrique, nature du métal ...) sur la réponse expérimentale de nos capteurs.

➤ Influence de l'épaisseur

La figure III-26 présente l'influence de l'épaisseur de la couche métallique sur l'évolution de la puissance transmise. Pour un même indice de réfraction ($n_s = 1,3618$), un déplacement du pic de résonance, une variation de son amplitude, et une modification de sa largeur sont obtenus par un changement d'épaisseur. Ce comportement du pic de résonance trouve son origine dans le principe de couplage ATR et plus précisément dans la conservation de l'énergie donnée par $R+T+A=1$ où R, T et A sont respectivement la réflectance, la transmission et l'absorption de la lumière incidente.

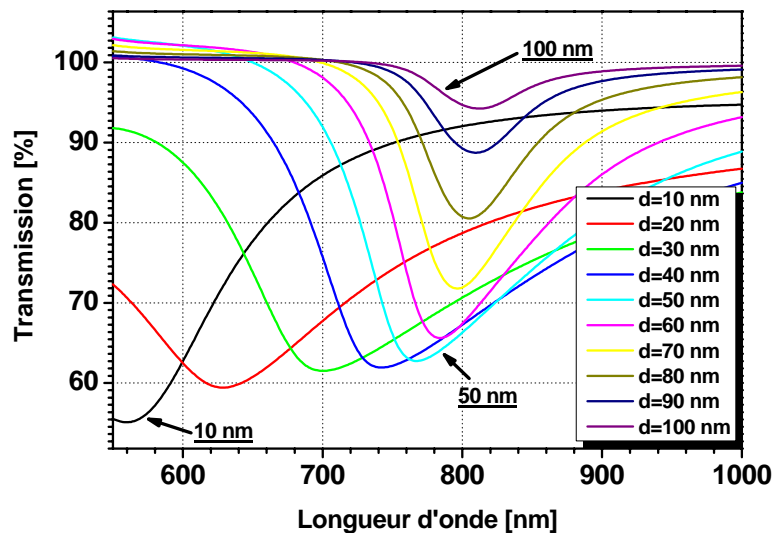


Figure III-26 : Simulations numériques de la réponse spectrale du capteur pour différentes épaisseurs de la couche d'or. Les paramètres de simulation : $Na=0,39$, diamètre= $300\mu m$, longueur de la zone sensible: $20mm$, $n_s=1,3618$. Les paramètres de la rugosité mesurée sont : $q=0,51$ et $d=5,75nm$.

Rappelons que dans le cas de la réflexion totale de la lumière (où $T=0$ et $R+A=1$), l'onde évanescente qui traverse la couche métallique avec une décroissance exponentielle peut exciter un mode plasmon de surface sur l'interface métal/diélectrique (analyte). Cette excitation de plasmon de surface est suivie d'une rétrodiffusion de la lumière (émission en arrière) dans le métal.

Si le métal est considéré comme épais, le champ électromagnétique rétrodiffusé s'affaiblit continuellement et disparaît : la réflectance R donnée par l'équation (II-1) tend vers l'unité. Dans ce cas, l'absorption est nulle. Par contre si l'épaisseur (d) du métal est faible, le champ électromagnétique rétrodiffusé augmente et comme il est en opposition

de phase avec l'onde incidente, les deux interfèrent d'une manière destructive et par conséquent la réflectance R décroît (base de la théorie de Fresnel). Il existe donc une épaisseur optimale d_{opt} , pour laquelle les deux ondes peuvent se compenser et R sera alors égal à zéro (cas d'une lumière polarisée $-p$). Dans ce cas, il y a une absorption totale de l'énergie de la lumière incidente par la couche métallique et l'intensité du champ électromagnétique à l'interface métal/diélectrique est maximale, ce qui induit une exaltation de champ électromagnétique par le plasmon de surface [8].

Notons que dans la configuration d'une fibre optique (lumière non polarisée), ou les deux polarisations $-p$ et $-s$ existent, cette épaisseur optimale correspond à R autour de 0,5 car l'excitation ne peut se produire que pour une onde de polarisation $-p$.

Nous remarquons sur la figure III-26 que pour une épaisseur inférieure à 50 nm, la résonance devient plus large et moins élevée tandis que pour des épaisseurs plus importantes, la largeur à mi-hauteur diminue mais l'absorption est plus importante.

Par rapport à la longueur d'onde de résonance, la figure III-27 présente l'influence de l'épaisseur de la couche sur la longueur d'onde de résonance pour trois milieux d'indices différents : 1,3335, 1,3668 et 1,3844. Nous remarquons que cette longueur d'onde se déplace significativement pour des épaisseurs inférieures à 50 nm, et ensuite elle se stabilise pour des épaisseurs plus élevées. Ce comportement est observé pour les trois indices. On notera aussi que l'amplitude de cette variation augmente en fonction de l'indice. D'autre part, la figure III-28 présente la variation de la transmission en fonction de l'épaisseur pour un même indice (1,3335). Cette courbe met en évidence l'effet de l'épaisseur sur la « profondeur » du pic. Nous remarquons que pour les faibles épaisseurs, le pic de résonance est plus prononcé par rapport à celui obtenu pour des épaisseurs plus importantes (>70nm).

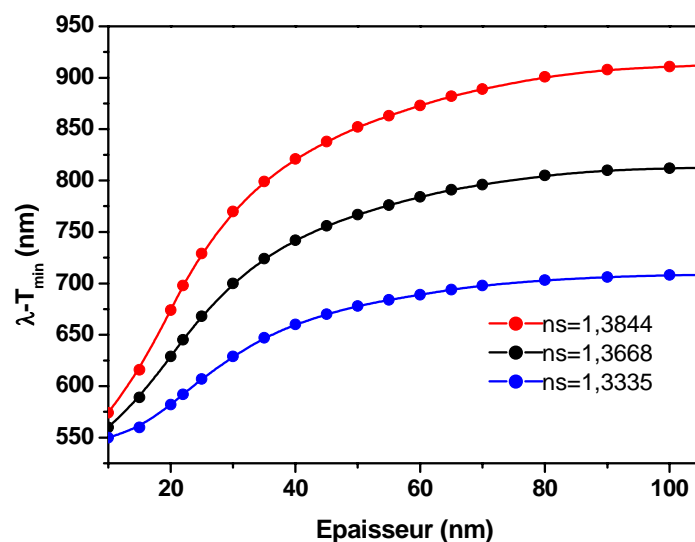


Figure III-27: Variation de la longueur d'onde de résonance en fonction de l'épaisseur de la couche d'or pour 3 indices différents du milieu extérieur : a) 1,3335 (bleu), b) 1,3668 (noir) et c) 1,3844 (rouge).

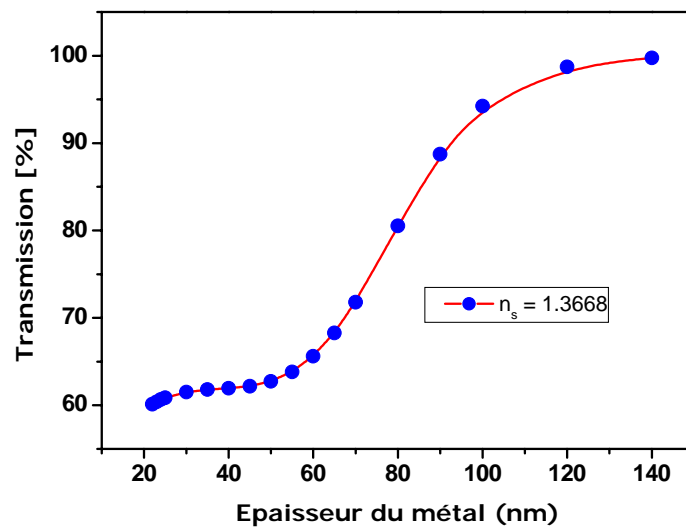


Figure III-28 : Variation de minimum de transmission en fonction de l'épaisseur de la couche d'or pour une indice $n_s=1,3335$.

Nous pouvons en conclure que le meilleur compromis entre largeur à mi-hauteur, amplitude et position de la résonance peut être obtenu pour une épaisseur optimale autour de 50 nm. Signalons que nous retrouvons la valeur optimale déterminée pour la configuration *Kretschmann-Raether* (prisme).

➤ Influence de la longueur de la zone sensible

La figure III-29 illustre la diminution du minimum de la résonance en fonction de la longueur L de la zone sensible. Dans nos calculs, la longueur de la zone sensible intervient dans la relation $N_{ref} = (L/D \tan \theta)$ (chapitre II) qui donne le nombre de réflexion N_{ref} . Plus la longueur de la zone sensible est grande, plus il y aura de réflexion des rayons lumineux et par conséquent l'absorbance sera plus prononcée. En contre partie, à chaque réflexion, une partie de la lumière sera absorbée par le métal, car ce dernier n'est pas un métal parfait et présente donc une petite absorption indépendamment de la résonance des plasmons. C'est aussi le cas des rayons de polarisation $-s$. Il n'est donc pas surprenant de voir qu'avec l'augmentation de la longueur sensible et donc du nombre de réflexion, la partie « haute » des courbes décroît régulièrement.

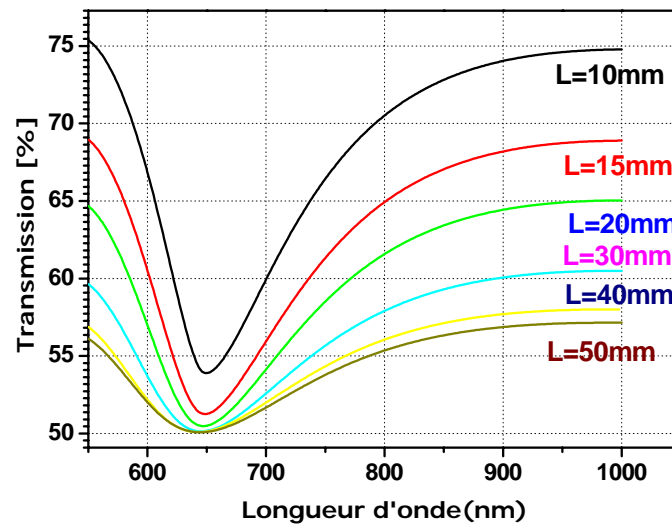


Figure III-29 : Variation de la réponse spectrale en fonction de la longueur de la zone sensible L .

Ceci se traduit par un élargissement des pics en augmentant la longueur de la zone sensible. Ainsi pour déterminer une longueur optimale, il faut trouver le compromis entre largeur et profondeur des pics. D'après cette figure, La longueur optimale de la zone sensible sera comprise entre 10 et 20 mm. Notons que la zone sensible doit être loin de la face d'entrée de la fibre pour minimiser l'effet de la polarisation de la lumière [9].

➤ Influence de l'ouverture numérique

Comme il a déjà été défini dans le chapitre II, l'ouverture numérique de la fibre optique ou du spectromètre est liée à l'angle critique qui joue un rôle important au niveau du calcul de la puissance transmise de la lumière suivant notre modèle numérique. Cet angle détermine la valeur minimale pour laquelle la condition de résonance pourra être satisfaite dans le cas du couplage par une fibre optique.

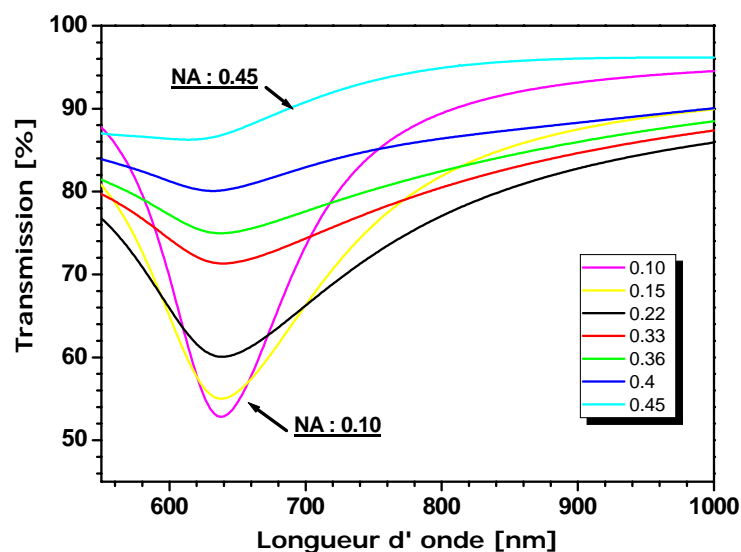


Figure III-30 : Variation de la réponse spectrale en fonction de l'ouverture numérique.

La figure (III-30) met en évidence l'influence de cette ouverture numérique sur le spectre de réflexion. Plus l'ouverture numérique est grande, plus la largeur de la bande d'absorption sera grande. La bande observée est l'enveloppe d'une multitude de résonances plasmons correspondant aux conditions de couplage (θ_i, λ_i) . Plus l'ouverture numérique sera faible, moins nous aurons de conditions satisfaites et plus l'enveloppe sera étroite. Ainsi plus cette ouverture sera grande, moins le capteur sera précis. Rappelons que l'ouverture numérique du spectromètre utilisé est de 0,22 ($\theta_c=1,4198^\circ$).

➤ Influence du diamètre du cœur

La modification du diamètre du cœur de la fibre optique n'a pas une importante influence sur la variation de la longueur d'onde de résonance, comme le montre la figure III-31.

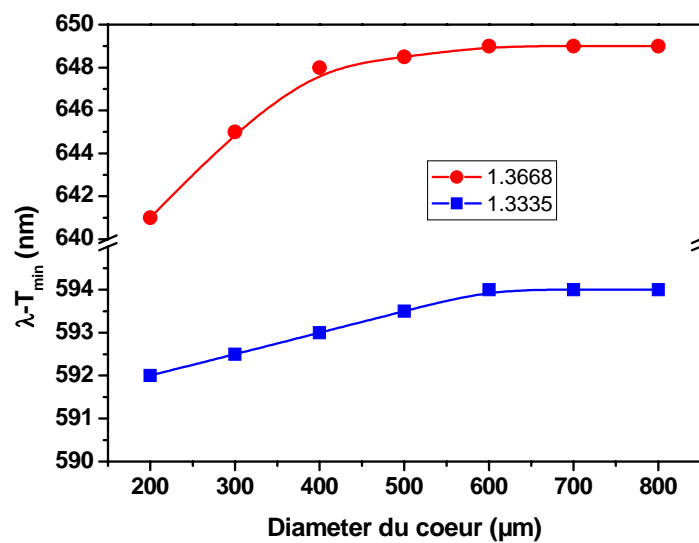


Figure III-31 : Variation de la longueur d'onde de résonance en fonction du diamètre de la fibre.

Alors que la figure III-32 présente une diminution en largeur à mi-hauteur de la bande de résonance pour une augmentation du diamètre du cœur D . Cette diminution est liée à la diminution du nombre de rayons réfléchis dans la fibre, comme l'indique la relation $N_{ref} = (L/D \tan \theta)$ (chapitre II) donnant le nombre de réflexion N_{ref} pour un diamètre D donné. Le choix d'une fibre avec 300 μm de diamètre est validé par ces simulations. Signalons que ce choix expérimental du diamètre est lié à des raisons de résistance mécanique.

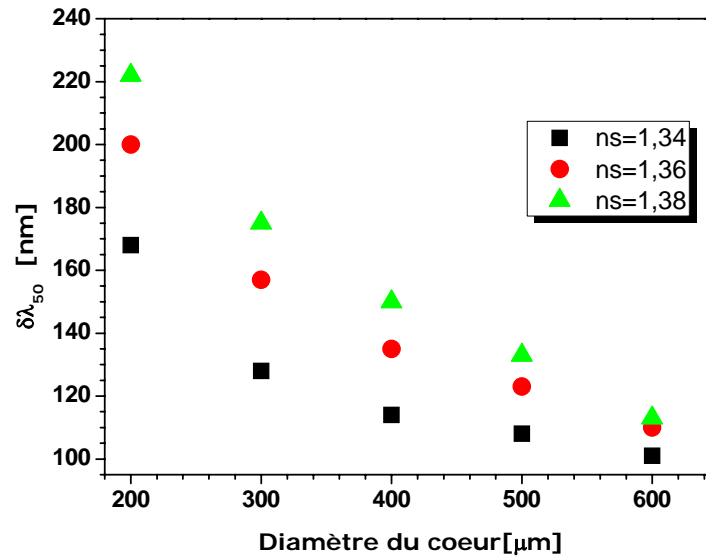


Figure III-32 : Variation de la largeur à mi-hauteur du pic de résonance en fonction du diamètre de la fibre.

En conclusion, ces simulations ont montré qu'une résonance optimale des plasmons peut être obtenue par les caractéristiques suivantes :

1. Une épaisseur d'une cinquantaine de nanomètre ;
2. Une longueur maximale de la zone sensible de l'ordre de 20 mm ;
3. Une fibre optique d'ouverture numérique 0,22 ou moins ;
4. Un diamètre du cœur de 300 μm ou plus.

Autrement dit, ces simulations nous ont permis de déterminer les conditions géométriques idéales de fonctionnement de notre capteur.

III-6 Sensibilité et rapport signal sur bruit du capteur SPR à fibre optique

Notre capteur SPR à fibre optique fonctionne en interrogation spectrale : pour chaque position en longueur d'onde du pic de résonance des plasmons de surface correspond un indice de réfraction (n_s) de l'analyte (milieu environnant). En effet, lorsque nous faisons varier l'indice de réfraction du milieu environnant de δn_s ($n_s \rightarrow n_s + \delta n_s$), le pic de résonance est décalé par une variation $\delta \lambda_{res}$ ($\lambda_{res} \rightarrow \lambda_{res} + \delta \lambda_{res}$) de la longueur d'onde de résonance (figure III-33).

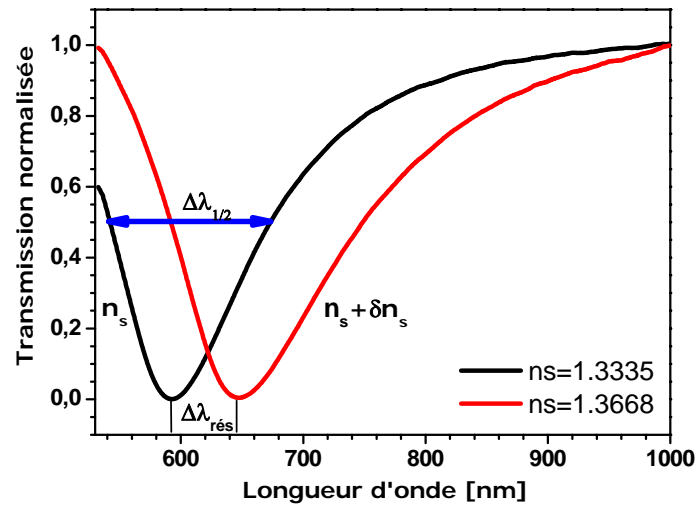


Figure III-33 : Réponse du capteur SPR en interrogation spectrale

Dans cette section, nous nous sommes intéressés à évaluer deux paramètres qui définissent la performance du capteur SPR : la sensibilité **S** et la limite de détection **LOD** (limit of detection) via le rapport signal sur bruit **SNR** (*Signal-Noise Ratio*). Nous présentons une comparaison entre les valeurs obtenues pour ces deux paramètres selon différentes configurations de capteurs SPR. Signalons que pour un meilleur fonctionnement du capteur, les deux paramètres **S** et **SNR** doivent avoir les plus grandes valeurs possibles.

III-6-1 Sensibilité

Un capteur est dit sensible s'il est capable de détecter les variations minimales de la grandeur mesurée (indice, épaisseur, concentration...). En particulier, le calcul de la variation de la longueur d'onde de résonance par rapport à l'indice de réfraction du milieu diélectrique permettra de définir une première sensibilité notée par $S_{\lambda n}$ [10]:

$$S_{\lambda n} = \frac{\delta \lambda_{res}}{\delta n_s} \quad (nm/RIU) \quad (III-26)$$

À partir de cette définition, et de la figure III-34 qui présente la variation de la longueur d'onde de résonance en fonction de l'indice de réfraction de l'analyte (n_s), nous avons présenté dans le tableau III-2 les valeurs de la sensibilité calculées à partir des mesures expérimentales et des courbes obtenues par la simulation. Ces valeurs comprises entre $1,6 \times 10^3$ et 3×10^3 nm /RIU présentent un bon accord entre les données expérimentales et les valeurs simulées.

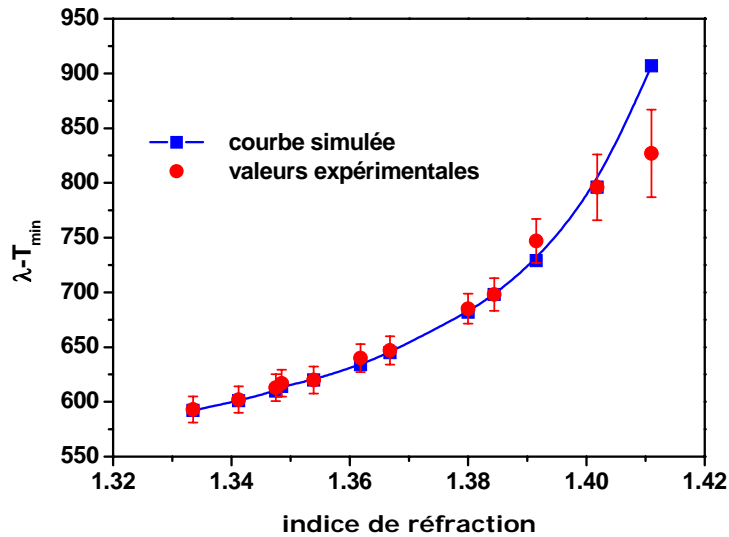


Figure III-34 : Variation de la longueur d'onde de résonance en fonction de l'indice du milieu extérieur (analyte) : (ligne continue) courbe obtenue à partir des points simulés ; (point) valeurs expérimentales.

Tableau III-2 : Sensibilité du capteur à fibre optique avec une couche d'or pour 3 différents indices de réfraction (d'après la figure III-25)

Indices (RIU)	Δn_s (RIU)	$\lambda-T_{\max}$ (nm)		$S_{\lambda n}$ (nm/RIU)	
		Expt.	Theo.	Expt.	Theo.
1,3335		594	592		
1,3668	0,0333	647	645	$1,593 \times 10^3$	$1,592 \times 10^3$
1,380	0,0465	698	692	$2,236 \times 10^3$	$2,15 \times 10^3$
1,4018	0,0683	798	796	$2,987 \times 10^3$	$2,987 \times 10^3$

Par ailleurs, il est possible de calculer la variation de la transmission (δT) par rapport à la variation de l'indice de réfraction du milieu extérieur (δn_s) à une longueur d'onde fixe, qui correspond à la longueur d'onde pour laquelle la dérivée $\delta T / \delta \lambda$ est maximale (voir figure III-33). La détermination de la dérivée de la transmission par rapport à l'indice de réfraction implique la définition d'une deuxième sensibilité notée S_{Tn} [11]:

$$S_{Tn} = \left(\frac{\delta T}{\delta n_s} \right)_{\lambda} \quad (RIU^{-1}) \quad (III-27)$$

Pour avoir la meilleure sensibilité, il faut donc se positionner à une longueur d'onde dite de travail. Cette longueur d'onde de travail est déterminée, comme la figure III-35 montre, en soustrayant la courbe enregistrée avec un analyte d'indice n_s de la courbe de référence (avec l'eau).

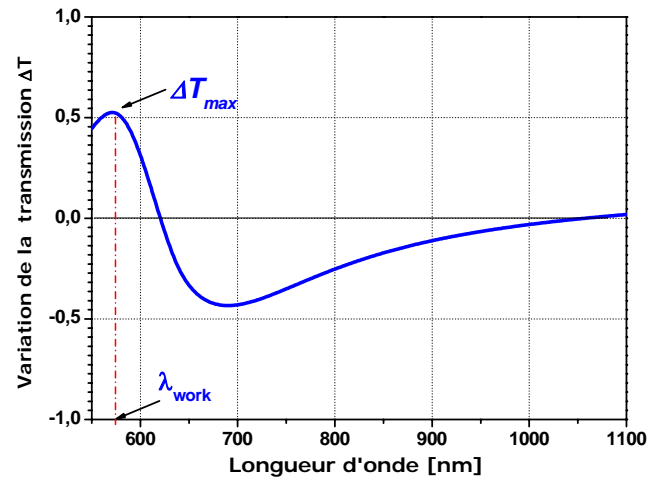


Figure III-35 : Variation de la transmission obtenue en effectuant la différence entre la courbe pour. Ce graphe nous permet de déterminer la longueur d'onde pour laquelle la variation de l'indice correspond à une variation maximale de la transmission.

La figure III-36 montre la soustraction des courbes enregistrées avec trois indices différentes (1,3668, 1,380 et 1,4018) de la courbe enregistrée avec l'eau (1,3335) en fonction de la longueur d'onde. Cette figure illustre les deux extrema pour chaque indice.

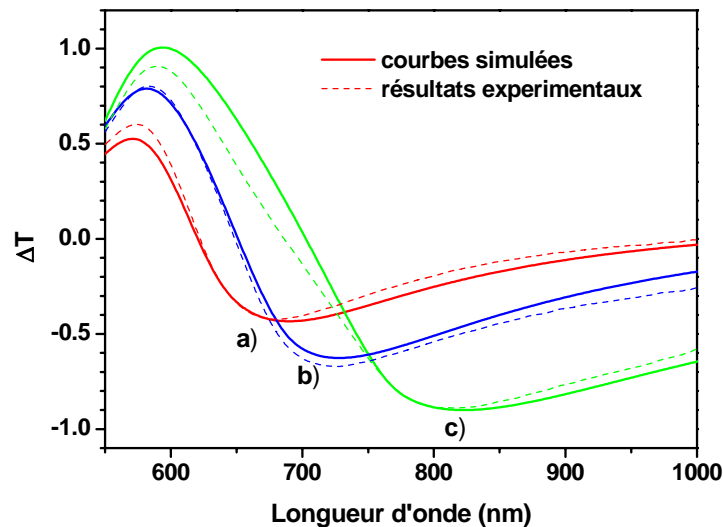


Figure III-36 : Variation (ΔT) en fonction de la longueur d'onde pour 3 différents indices à partir de la réponse simulée (ligne continue) et de la réponse expérimentale (ligne discontinue) a) 1,3668, b) 1,380, c) 1,4018.

Dans ce cas, la meilleure condition de travail correspond à la longueur d'onde où la variation de la puissance est la plus élevée. Ce qui justifie notre choix de 582 nm comme longueur d'onde de travail. Nous pouvons noter que pour cette valeur de longueur d'onde, le maximum de la variation ΔT varie de façon monotone avec l'indice de réfraction. Tandis que pour les autres extrema ($> 680\text{nm}$), nous remarquons que le minimum de ΔT passe rapidement de 689 à 820 nm lorsque l'indice de réfraction

augmente de 1,3668 à 1,4018. Dans ce cas, il devient plus difficile de choisir la longueur d'onde du travail unique.

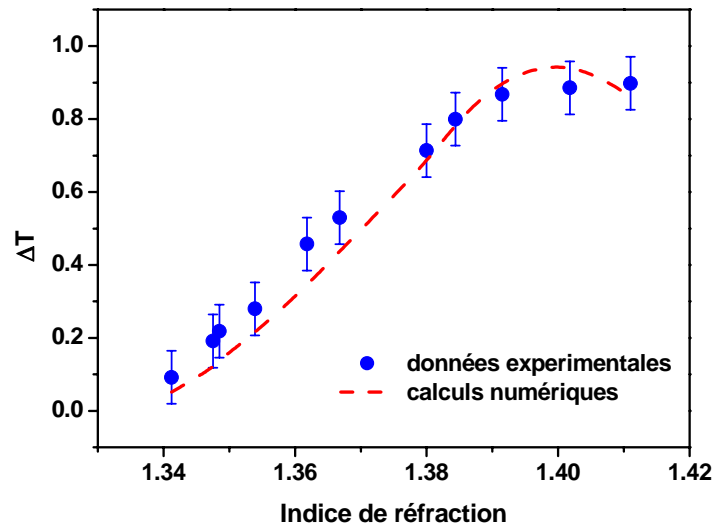


Figure III-37 : Variation (ΔT) en fonction de l'indice de réfraction du milieu extérieur (analyte) pour une longueur d'onde de travail ($\lambda_{trav} = 582$ nm).

La figure III-37 présente un bon accord entre les valeurs théoriques et expérimentales de ΔT en fonction de l'indice de réfraction à une longueur d'onde de travail $\lambda_{trav} = 582$ nm. Ceci nous permet de calculer une sensibilité S_{Tn} (pente de la courbe) voisine de 17,8 RIU⁻¹ pour des indices compris entre 1,33 et 1,38 RIU. Hors de cette gamme d'indice, une meilleure sensibilité pourra être obtenue par un changement de la longueur d'onde du travail.

III-6-2 Rapport signal sur bruit

La limite de détection est le second paramètre de performance qu'il est important d'étudier pour caractériser un capteur SPR. La limite de détection ou résolution est la variation minimale du paramètre mesuré (l'indice de réfraction n_s ou la transmission T pour nous) que l'on sera capable de résoudre. Elle dépendra donc de la résolution spectrale qui est calculée ou estimée à partir des différents facteurs, (i) la résolution instrumentale liée aux équipements utilisés pour la mesure du signal (spectromètre, réponse de la CCD,...), (ii) la forme intrinsèque du signal mesuré. En effet, notre capacité à séparer deux informations distinctes dépendra de l'amplitude du pic d'absorption, de sa forme et de sa largeur. En particulier, des grandes largeurs à mi-hauteur des bandes d'absorption obtenues avec des fibres à grande ouverture numérique, ne permettront pas d'observer avec une grande précision une faible variation la longueur d'onde de transmission minimale.

Pour tenter de quantifier ce dernier point, un indicateur a été proposé dans la littérature, sous le nom de **SNR** (*Signal to Noise Ratio*) [12-14]. Il est défini comme étant inversement proportionnel à la largeur du pic de résonance. Par conséquent, plus le **SNR** aura une grande valeur, plus la détection sera précise. Par définition, le **SNR** d'un capteur SPR est écrit selon l'expression suivante [12]:

$$SNR(n_s) = \left[\frac{\delta\lambda_{res}}{\delta\lambda_{1/2}} \right]_{n_s} \quad (III-28)$$

où $\delta\lambda_{res}$ est la variation que subit la longueur d'onde de résonance pour une variation δn_s de l'indice de réfraction du milieu environnant, et $\delta\lambda_{1/2}$ est la largeur du pic à mi-hauteur qui correspond à 50% de la puissance transmise maximale (figure III-33).

Les valeurs de **SNR** calculées à partir des courbes de réponse SPR expérimentales et celles provenant d'un calcul numérique (figure III-25) sont présentées dans le tableau (III-3). Ces valeurs sont obtenues pour trois indices du milieu extérieur (analyte) n_s différents (1,3668; 1,38 et 1,4018) dont le décalage $\delta\lambda_{res}$ calculé par rapport à la longueur d'onde de résonance en présence de l'eau ($n_s=1,335$) est respectivement égale à 53, 104 et 204 nm pour les courbes expérimentales et 53, 100 et 204 nm pour les simulations numériques. Nous remarquons qu'une augmentation d'indice entraîne une augmentation de la valeur du **SNR**. Ceci implique que le **SNR** dépend fortement du décalage du pic de résonance $\delta\lambda_{res}$ (la grande valeur du **SNR** est obtenue pour $\delta\lambda_{res}$ le plus élevé). De plus, nous remarquons que les valeurs expérimentales de **SNR** sont systématiquement plus grandes que celles obtenues à partir des courbes théoriques; effet induit par une sur-estimation par notre modèle de la largeur à mi-hauteur des courbes théoriques.

Tableau III-3 : SNR du capteur a fibre optique avec une couche d'or (22nm) pour 3 différentes indices de réfraction (d'après la figure III-23)

Indices (RIU)	$\lambda-T_{max}$ (nm)		SNR	
	Expt.	Theo.	Expt.	Theo.
1,3335	594	592		
1,3668	647	645	0,404	0,379
1,38	698	692	0,8	0,77
1,4018	798	796	1,557	1,457

III-6-3 Comparaison fibre optique et prisme

Sur la figure III-38, nous avons tracé pour les mêmes indices n_s , la réponse simulée pour un capteur SPR à fibre optique et celle obtenue pour un capteur en configuration de *Kretschmann*. Les simulations avec le prisme sont obtenues par le modèle présenté au chapitre II afin de calculer la réflectance de la lumière en fonction de la longueur d'onde. L'angle incident est équivalent à celui de l'angle critique de la fibre optique (85°) et nous

avons choisi pour l'indice du prisme celui de la silice 1,458. Cette figure montre clairement que les courbes obtenues avec la fibre optique sont beaucoup plus larges que celles obtenues avec un prisme. Les valeurs calculées de la sensibilité et du **SNR** pour un capteur à base d'un prisme sont reportées dans le tableau III-4. Ces valeurs mettent en évidence que les valeurs du **SNR** calculées avec un capteur à fibre optique sont plus faibles que celles des dispositifs SPR couplés par prisme, ce résultat confirme que les configurations à fibre optique ne peuvent pas espérer atteindre d'aussi bonnes limites de détection **LOD** que celles atteintes avec un prisme. Par contre, nous avons trouvé les mêmes valeurs de sensibilité pour les deux configurations.

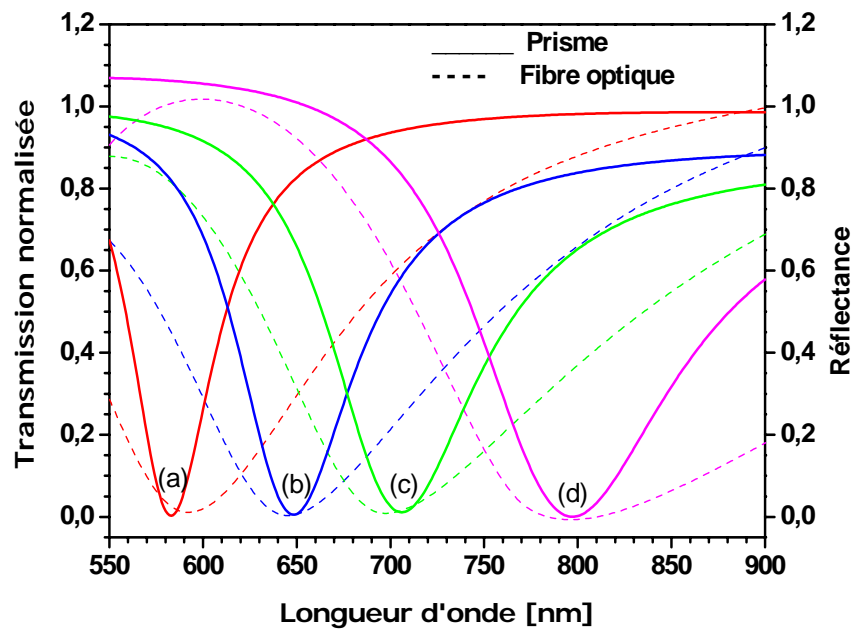


Figure III-38 : Comparaison entre la réponse numérique d'un capteur SPR à fibre optique (lignes discontinues) et celle obtenue avec un capteur SPR dans la configuration du kretschmann (lignes continues indice du prisme=1,457, angle incident=85°) pour 4 indices différents du milieu extérieur :a)1,3335, b) 1,3668, c)1,3844, et d) 1,4018.

Tableau III-4 : Sensibilité et SNR du capteur SPR dans la configuration de Kretschmann pour 3 indices de réfraction différents (d'après la figure III-38).

Indices (RIU)	Δn_s (RIU)	$\lambda-T_{\max}$ (nm)	SNR	$S_{\lambda n}$ (nm/RIU)
		Theo.	Theo.	Theo.
1,3335		583		
1,3668	0,0333	648	1,2037	$1,952 \times 10^3$
1,3844	0,0509	707	2,297	$2,436 \times 10^3$
1,4018	0,0683	796	3,944	$3,118 \times 10^3$

Cette diminution du **SNR** pour le capteur SPR à fibre optique est une conséquence de l'élargissement du pic de résonance car nous ne mesurons non pas un pic de résonance mais une enveloppe de pics. En effet, contrairement au prisme où il est possible de choisir l'angle d'incidence et la polarisation, le pic de résonance produit par un capteur fibre optique multimode correspond à la somme de pics de résonance de tous les couples (θ_i, λ_i) satisfaisant aux conditions de la résonance des plasmons de surface.

Sharma et al. ont proposé de réduire l'ouverture numérique du système pour diminuer l'élargissement du pic, et par voie de conséquence augmenter le rapport signal sur bruit comme mis en évidence sur la figure III-30. Mais attention, si une diminution de l'ouverture numérique augmente le **SNR**, il a été montré qu'il réduit parallèlement la sensibilité [12]. En conclusion, un compromis doit être trouvé pour optimiser la sensibilité et le rapport signal sur bruit en fonction de l'ouverture numérique du système optique.

III-6-4 Capteur fibre optique avec une couche d'argent

Les capteurs réalisés avec un dépôt d'or sont plus stables dans le temps que ceux métallisés avec un dépôt d'argent. Ce dernier métal se dégrade très rapidement en milieu aqueux. Par contre, les pics de résonance obtenus avec l'argent sont moins larges que ceux avec l'or. Ceci rend la détection SPR plus précise avec l'argent. Le comportement des courbes de résonance est montré sur la figure III-39 qui présente les réponses expérimentales du capteur SPR à fibre optique pour une couche d'argent d'épaisseur 52 (± 2) nm. Les autres caractéristiques de la fibre sont les mêmes que celles utilisées avec les fibres métallisées avec l'or. Les courbes présentées sur cette figure correspondent aux indices suivants : (a) 1,3395, (b) 1,3430, (c) 1,3561, (d) 1,3620, (e) 1,3872 et (f) 1,3922.

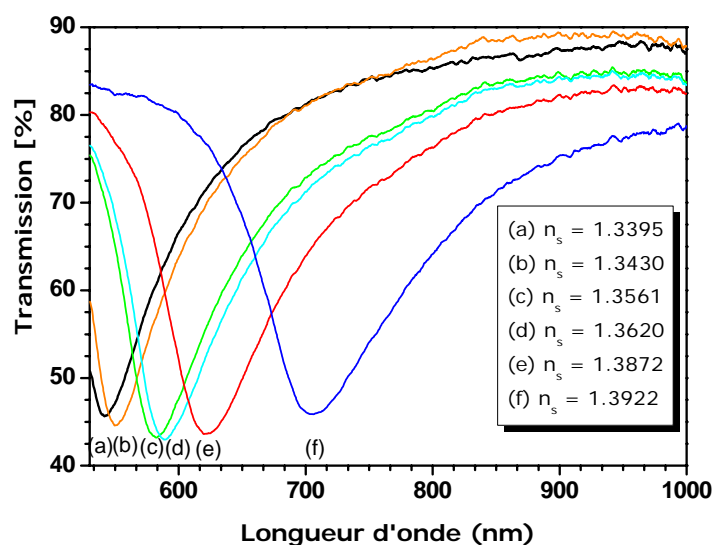


Figure III-39 : Réponse spectrale du capteur avec une couche d'argent de 52nm d'épaisseur. (a) $n_s=1,3395$, (b) $n_s=1,3430$, (c) $n_s= 1,3561$, (d) $ns=1,3620$, (e) $n_s=1,3872$ et (d) $n_s=1,3922$.

A partir de ces résultats expérimentaux, nous pouvons constater que le capteur SPR réalisé avec une couche d'argent a une gamme de fonctionnement comprise entre 1,3561 et 1,40 en raison de notre système de mesure, et plus précisément du spectromètre, qui n'a pas été prévu pour mesurer des signaux de longueur d'onde inférieure à 530 nm. Les valeurs de la sensibilité et du **SNR** pour un capteur réalisé avec une couche d'argent sont reportées dans le tableau III-4. Ces valeurs calculées à partir des courbes expérimentales nous indiquent que l'argent est très sensible à la variation de l'indice de réfraction dans sa gamme de fonctionnement. Il présente ainsi une meilleure précision pour la mesure de la longueur d'onde de résonance. Le **SNR** d'un capteur fabriqué avec une couche d'argent sera donc plus élevé que celui obtenu avec une couche d'or (pour $\Delta n_s = 0,03$, nous avons obtenu un **SNR** de 0,404 avec l'or et un **SNR** de 1,921 avec l'argent).

Tableau III-5 : Sensibilité et SNR du capteur SPR avec une couche d'argent pour 3 indices de réfraction différentes (d'après la figure III-39).

Indices	Δn_s	$\lambda-T_{\max}$	SNR	$S_{\lambda n}$
(RIU)	(RIU)	(nm)		(nm/RIU)
		Exp.	Exp.	Exp.
1,3561		540		
1,3620	0,0059	588	0,093	$1,106 \times 10^3$
1,3872	0,0311	633	0,627	$2,286 \times 10^3$
1,3922	0,0361	705	1,921	$3,407 \times 10^3$

III-6-5 Capteur SPR par dépôt d'une couche bimétallique (argent/or)

Une nouvelle structure de la couche métallique a été le sujet de différentes études dans le but de coupler les avantages de deux métaux [15]. Cette structure de la couche métallique est alors une combinaison de deux couches argent/or (appelée couche bimétallique) où l'or joue le rôle de couche protectrice de l'argent. Il est théoriquement prouvé que l'intensité du champ électrique de l'onde évanescente à l'interface métal/diélectrique obtenue avec un dépôt d'une couche bimétallique argent/or est 3 fois plus forte que celle obtenue avec une simple couche d'or [16]. Une augmentation d'intensité du champ évanescent (via la couche d'argent) implique une pénétration plus prononcée dans le milieu sensible et augmente ainsi la zone de détection. *Sharma et Gupta* [12] ont présenté une analyse théorique et numérique sur la performance d'un capteur fibre optique avec une telle couche bimétallique. Ils ont notamment montré l'effet de différents paramètres de la fibre capteur sur la sensibilité et le rapport signal de bruit (**SNR**). De plus, des mesures expérimentales ont été réalisées par *Alieva et Konopsky* [17] sur une couche d'argent protégée par une couche d'or. *Yuan and al.* [18] ont montré par des travaux expérimentaux qu'un système ATR à double couches (Ag /Au) est plus sensible qu'un système avec une seule couche d'argent et plus précis

qu'un autre fabriqué avec une simple couche d'or. Dans le même contexte, *Zynio et al.* [19] ont montré l'avantage d'utiliser une couche bimétallique argent/or pour la détection en temps réel des interactions moléculaires par un biocapteur SPR.

Pour profiter de la sensibilité de l'or et sa stabilité dans le temps ainsi que de la valeur plus élevée du **SNR** obtenue avec l'argent, nous avons déposé une couche bimétallique Argent/Or sur la zone dénudée d'une fibre optique. Les caractéristiques de la fibre multimodale utilisée sont les suivantes : une longueur totale de 30 cm, un diamètre de 400 μm , un indice du cœur de 1,457 et une zone dénudée et métallisée de 20 mm.

Les épaisseurs des deux couches déposées ont été évaluées par profilométrie. Nous avons obtenu une épaisseur de $24 \pm 5\text{nm}$ pour la couche d'argent et de $15 \pm 5\text{nm}$ pour celle d'or.

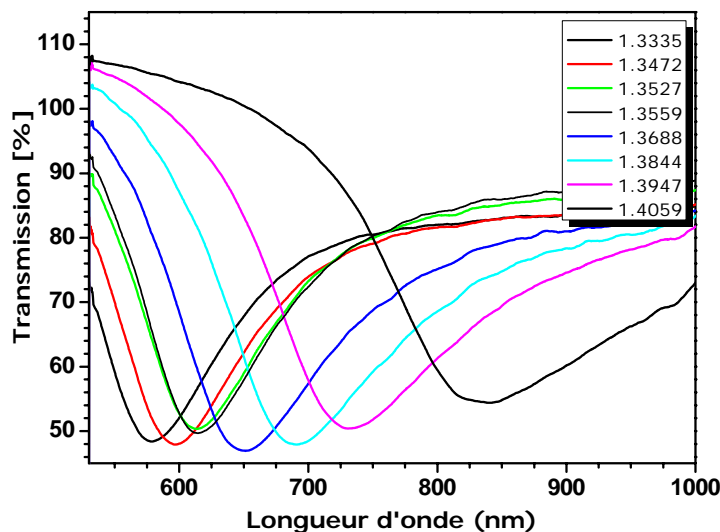


Figure III-40 : Réponse spectrale du capteur avec une couche bimétallique (Ag/Au)

La figure III-40 présente la réponse spectrale du capteur avec cette couche bimétallique (Ag/Au) pour différents indices n_s . Ce type de capteur a une gamme de fonctionnement identique à celle de l'or (1,33-1,41) mais nous remarquons, conformément à ce que nous attendions, que les pics de résonance sont moins larges que ceux obtenus avec une seule couche d'or. Par exemple, la largeur à mi-hauteur du pic de résonance ($\delta\lambda_{1/2}$) obtenue dans l'eau ($n_s=1,3335$) est égale à 130 nm pour l'or alors que pour notre bicouche (Ag/Au) elle ne vaut que 105nm. Globalement, les courbes mesurées sont en bon accord avec les simulations numériques obtenues avec une couche bimétallique argent/or (figure III-41). Les écarts au niveau de la largeur des pics peuvent être attribués à l'incertitude sur les épaisseurs des deux couches métalliques.

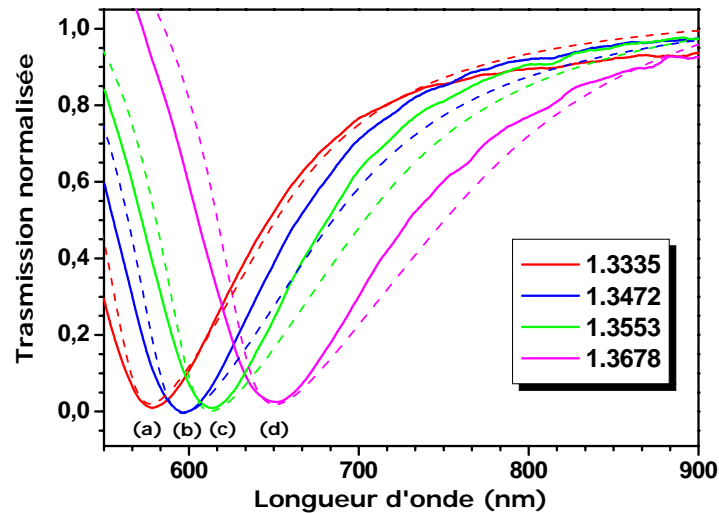


Figure III-41 : Comparaison entre la réponse expérimentale (ligne continue) et la réponse numérique (ligne discontinue) d'un capteur SPR à fibre optique avec une couche bimétallique (Ag/Au) pour 4 indices différents du milieu extérieur : a) 1,3335, b) 1,3472, c) 1,3553 et d) 1,3678.

Les valeurs de la sensibilité et du **SNR** obtenues avec ce type de capteur sont présentées dans le tableau III-6. Ces valeurs montrent que le capteur avec la couche bimétallique (argent/or) est aussi sensible à la variation de l'indice du milieu extérieur (n_s) qu'un autre capteur avec une simple couche d'or. Si nous comparons maintenant les valeurs du **SNR** pour les deux capteurs, nous trouvons que ces valeurs sont plus grandes par rapport à celles obtenues dans le cas d'un capteur avec une seule couche d'or. Par exemple, pour $\Delta n_s = 0,03$ nous avons obtenu **SNR** = 0,404 avec l'or et **SNR** = 0,685 avec la bicouche (argent/or). L'intérêt de la couche d'argent sous la couche d'or est d'une part d'augmenter le **SNR** du capteur, et d'autre part d'assurer une bonne adhésion de la bicouche métallique sur le cœur de la fibre optique (en silice). En effet, il est connu que l'or adhère difficilement sur les surfaces formées d'oxydes (verre et quartz). Enfin, rappelons que la couche d'or est nécessaire car elle va protéger l'argent de l'oxydation.

Tableau III-6 : Sensibilité et **SNR** du capteur à fibre optique avec une couche bimétallique (Ag/Au) (24/15nm) pour 3 indices de réfraction différentes (d'après la figure III-40).

Indices	Δn_s	$\lambda - T_{\max}$	SNR	$S_{\lambda n}$
(RIU)	(RIU)	(nm)		(nm/RIU)
		Expt.	Expt.	Expt.
1,3335		578		
1,3668	0,0333	648	0,685	$2,162 \times 10^3$
1,3844	0,0509	707	1,060	$2,200 \times 10^3$
1,4059	0,0724	796	2,38	$3,453 \times 10^3$

Sur la figure III-42, nous avons comparé la réponse des trois capteurs pour le même indice ($n_s=1,3553$). Le premier capteur a été métallisé par une couche d'argent, le deuxième par une couche d'or et le troisième avec une couche bimétallique argent/or. Nous remarquons que le pic de résonance obtenu avec la couche bimétallique se trouve entre le pic obtenu avec une seule couche d'argent et celui avec une couche d'or. De plus, ce pic est plus prononcé et moins large que celui obtenu avec une couche d'or.

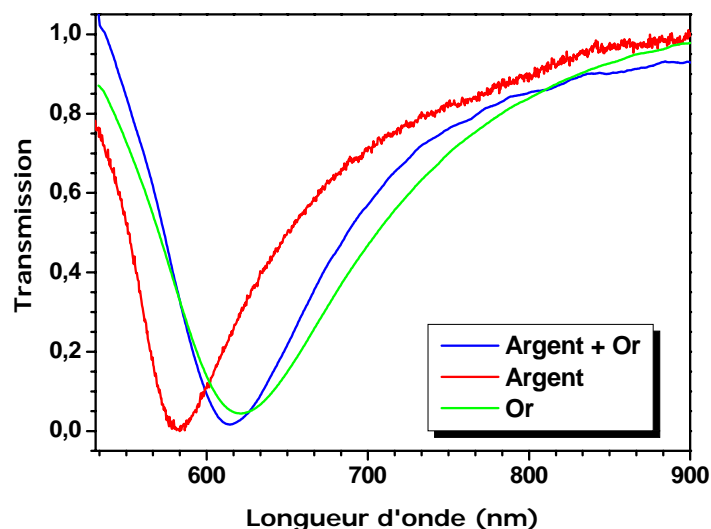


Figure III-42 : Comparaison de la réponse spectrale expérimentale obtenue avec : une couche d'or (vert), couche d'argent (rouge) et une couche argent/or (bleu).

En se basant sur les différentes études publiées dans la littérature ainsi que nos résultats obtenus avec un capteur SPR à fibre optique avec une couche bimétallique argent/or, nous pouvons conclure qu'une telle couche peut être utilisée dans tous les capteurs SPR chimiques et biologiques. Une augmentation du rapport signal/bruit permet de mieux contrôler les interactions entre les molécules, ce qui est important dans un grand nombre d'applications en pharmacologie, biologie et/ou médecine. Notons qu'une optimisation du rapport entre l'épaisseur des deux couches métalliques devrait permettre une meilleure sensibilité et une plus grande valeur du **SNR**.

III-7 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons validé notre modèle numérique développé dans le chapitre précédent, en le confrontant aux résultats expérimentaux acquis dans des conditions de fonctionnement réelles d'un capteur SPR à fibre optique.

En particulier, dans ce modèle, nous avons pris en compte la rugosité de la couche métallisée. Pour ce faire, nous avons utilisé deux approches pour introduire cette dans nos calculs : la première approche consiste à calculer Δk_{rug} à partir du calcul de la densité spectrale de puissance **DSP** puis à l'introduire comme un terme de correction dans la relation de couplage du plasmon de surface présentée au chapitre I. La seconde basée sur la théorie des milieux effectifs, et plus précisément sur la théorie de Maxwell-

Garnett, consiste à introduire la rugosité comme une couche supplémentaire dans le modèle multicouche.

Afin d'utiliser dans les simulations des paramètres proches des valeurs réelles, des mesures *AFM* sur des couches d'or ont été effectuées pour obtenir la densité spectrale (**DSP**) et les paramètres de la couche effective (**q** et **d**). Les simulations ont mis en évidence qu'il est possible de prévoir l'élargissement des courbes SPR par un traitement analytique et statistique de la rugosité de surface. L'implémentation de la rugosité dans le modèle numérique nous a alors permis d'obtenir un bon accord entre la réponse simulée et la réponse expérimentale.

Une fois le modèle numérique validé, nous disposons d'un outil permettant de réaliser des études paramétriques numériques et ainsi de prévoir l'influence des paramètres physiques sur la réponse du capteur. Par conséquent, cet outil numérique nous permet de déterminer les conditions de fonctionnement optimales du capteur.

En respectant ces conditions, une meilleure sensibilité expérimentale est obtenue, qui est en bon accord avec les valeurs calculées. L'évaluation du rapport signal sur bruit de notre capteur nous permet de comparer sa précision avec des capteurs ayant d'autres configurations, en particulier la configuration de *Kretschmann-Raether* (prisme) ou fibre métallisée avec de l'argent ou une bicouche argent/or.

Bibliographie

- [1] H. Raether, Surfaces plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings, Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, 1988,33-41.
- [2] E.Fontana et R.H Pantell, Caraceterization of multilayer rough surfaces by used of surface-plasmon spectroscopy, Physical Review B 37 (1988)3164.
- [3] J.M. Bennett et L. Mattsson : Introduction to surface Roughness and Scattering 2nd edn 5 Washington, DC : Optical Society of America) (1999) 47-70.
- [4] G. J. Kovacs, G. D. Scott, Optical excitation of surface plasma waves in layered media Phys. Rev. B 16 (1977) 1297-1311.
- [5] D. E. Aspnes, Optical Properties of Thin Films Thin solid film, 89 (1982) 249.
- [6] S. Berthier, Optiques des milieux composites, paris politechnica-1993.
- [7] F. Bardin, capteur à fibre optique à gradient d'indice inverse basé sur la résonance des plasmons de surface : applications à la detection d'especes chimiques. Université Jean Monnet de Saint-Etienne,2001, chapitreIV , pp.109-117.
- [8] H. Raether, surfaces plasmons on smooth and rough surfaces, Springer-verleg, Berlin, Heidelberg, Germany, 1988,16-18.
- [9] W. B. Lin, N. Jaffrezic-Renault, A. Gagnaire and H. Gagnaire, The effects of polarization of the incident light-modeling and analysis of a SPR multimode optical fiber sensor, Sensors and Actuators A 84 (2000) 198-204.
- [10] J. Homola, On the sensitivity of surface Plasmon resonance sensors with spectral interrogation, Sensors and Actuators B41 (1997) 207-211.
- [11] M-H Chiu, C-h Shih, M-H Chi, Optimum sensitivity of single-mode D-type optical fiber sensor in the intensity measurement. Sensors and Actuators B 123(2007)1120-1124.
- [12] A. K. Sharma, B. D. Gupta, On the sensitivity and signal to noise ration of a step-index fiber optic surface Plasmon resonance sensor with bimetallic layers, Optics Communications 245(2005) 159-169.
- [13] A. K. Sharma, R. Jha, B. D. Gupta, Fiber-optic sensors based on surface Plasmon resonance : a comprehensive review, IEEE sensors journal, 7(2007) 1118-1129.
- [14] A. K. Sharma and B. D. Gupta Comparison of Performance Parameters of Conventional and Nano-plasmonic Fiber Optic Sensors, Plasmonics 2(2007) 51–54.
- [15] B. H. Ong, X. Yuan, S. C. Tjin, J. Zhang, H. M. Ng, Optimized film thickness for maximum evanescent field enhancement of a bimetallic film surface Plasmon resonance biosensor. Sensors and Actuators B 114 (2006) 1028–1034.
- [16] S.Y. Wu, H.P. Ho,Sensitivity improvement of the surface plasmon resonance optical sensor by using a gold-silver transducing layer, in, Proceedings of the IEEE, Electron Devices Meeting 2002, Hong Kong, 2002, pp. 63–68.
- [17] E.V. Alieva and V.N. Konopsky, Biosensor based on surface plasmon interferometry independent on variations of liquid's refraction index, Sensors. Actuators B 99 (2004) 90–97.
- [18] X-C Yuan, B.H. Ong, Y. G.Tan, D.W, Zhang, R. Irawan et S.C. Tjin, Sensitivity-Stability-optimized surface Plasmon resonance sensing with double metal layers. Journal of optics A: pure and applied optics 8 (2006) 959-963.
- [19] S.A. Zynio, A. V. Samoylov, E.R. Surovtseva, M. Mirsky et Y. M. Shirshov, Bimetallic layers increase sensitivity of affinity sensors based on surface Plasmon resonance. Sensors 2 (2002) 62-70.

ETUDE EXPERIMENTALE ET NUMERIQUE D'UN CAPTEUR SPR A FIBRE OPTIQUE DANS UNE CELLULE MICROFLUIDIQUE

IV-1 Introduction	123
IV-2 Microfluidique et dispositif expérimental.....	124
IV-2-1 Microfluidique et biotechnologie.....	124
IV-2-2 Dispositif expérimental.....	125
IV-2-3 Réponse expérimentale du système lors de l'injection de solutions références .	128
IV-3 Modélisation du capteur d'indice à fibre optique	130
IV-3-1 Ecoulement laminaire.....	130
IV-3-2 Fluide Newtonien et non-Newtonien	131
IV-3-3 Equations de Navier-Stokes	132
IV-3-4 Profil de vitesse entre deux plaques parallèles	133
IV-3-5 Equation de transport par diffusion et advection (convection forcée).....	135
IV-3-6 Résolution par la méthode des éléments finis	136
IV-3-7 Résultats numériques et comparaisons	140
IV-4 Mesure de réactions biochimiques de type « Key-lock »	142
IV-4-1 Modèle de Langmuir	143
IV-4-2 Couplage advection/diffusion et réaction biochimique de type « Key_Lock ».....	145
IV-4-3 Implémentation du modèle complet	146
IV-4-4 Quantification de la réaction par la technique SPR.....	147
IV-5 Résultats numériques – caractérisation du biocapteur	149
IV-5-1 Couplage adsorption chimique – signal SPR.....	150
IV-5-2 Etude cinétique de la réaction PKI-PrKX.....	153
IV-5-3 Etudes paramétriques	160
II-11 Conclusion.....	161
Bibliographie	163

IV-1 Introduction

Après avoir caractérisé nos fibres capteurs, validé notre modèle numérique et déterminé les sensibilités expérimentales et numériques au chapitre III, nous allons présenter l'étude du capteur dans une configuration plus réaliste de fonctionnement. En effet, les capteurs SPR sont généralement utilisés et couplés à un système microfluidique, ce dernier ayant pour fonction, d'une part d'amener les espèces cibles plus rapidement à proximité de la surface sensible, et d'autre part de contrôler la cinétique d'hybridation des molécules cibles avec les ligands en surface de la zone de mesure. Dans ce chapitre, nous décrirons dans un premier temps le montage expérimental simple que nous avons mis en place. Puis nous poursuivrons par les équations de mécanique des fluides et de transport de masse, que nous avons dû implémenter pour tenir compte du mouvement du fluide et des particules cibles dans la cellule.

En effet, en biotechnologie, les cibles biologiques sont généralement diluées dans un liquide (solution tampon ou « buffer ») afin d'être guidées vers une surface réactive où elles seront immobilisées le temps de la mesure. Les cibles, de tailles bien supérieures aux molécules constituant le liquide porteur, peuvent être considérées comme des micro- et nanoparticules ou macromolécules. Différentes forces vont alors agir sur ces particules. A l'échelle microscopique, nous devons prendre en compte la diffusion, traduisant le déplacement aléatoire de ces particules dû au mouvement brownien, les phénomènes d'advection (convection forcée) des particules dans le fluide en mouvement et seulement à la fin, les mécanismes d'hybridation (adsorption et désorption) des particules à la surface du capteur.

Dans notre étude, nous nous sommes volontairement placés dans le cas d'un fluide incompressible et newtonien, hypothèses généralement valables pour des solutions biologiques peu concentrées. Ces hypothèses permettent de traiter l'ensemble de ces phénomènes (advection/diffusion) de manière couplée (densité et viscosité de la solution constante).

Les résultats expérimentaux seront comparés aux résultats numériques afin de valider les hypothèses simplificatrices que nous avons introduites lors de la modélisation des phénomènes d'écoulement. S'agissant de phénomènes couplés, nous décrirons alors comment nous avons pris en compte simultanément les équations du chapitre III écrites sous Matlab7 avec les équations aux dérivées partielles traduisant le transport des analytes et résolues par une modélisation éléments finis tenant compte de la géométrie de la cellule. Cette première étape sera validée expérimentalement en mesurant l'écoulement de solutions de glycerol d'indice variable dans la cellule de mesure.

Pour finir, les réactions de surface, en particulier les phénomènes d'adsorption et de désorption seront alors pris en compte en utilisant le modèle de *Langmuir*, directement implémenté pour le calcul de la concentration en surface de l'analyte. Toutes les équations partielles différentielles seront traitées à l'aide du logiciel *Comsol Multiphysics*

3.3, et les résultats seront directement pris en compte pour le calcul de la transmission de la lumière dans la fibre optique. Au final, ce travail nous permettra de mieux comprendre les couplages entre les phénomènes de diffusion, d'advection (convection) et de réaction de surface pour un capteur SPR à fibre optique et ainsi d'en déterminer ses possibilités et limites en fonctionnement réel.

IV-2 Microfluidique et dispositif expérimental

IV-2-1 Microfluidique et biotechnologie

De plus en plus de laboratoires d'analyses microbiologiques utilisent des « puces » ou des microsystèmes d'analyses. L'intérêt pour ces systèmes vient de leur automatisation et de leur miniaturisation, rendant possible une intégration des opérations de mesures dans un seul dispositif tout en visualisant et manipulant les objets le plus rapidement possible.

En biotechnologie ces objets sont souvent des cibles vivantes. Dans la majorité des cas, afin de ne pas dégrader ou tuer les cibles étudiées, il est important de pouvoir les manipuler dans de petits volumes de fluides qui circulent dans des canaux ayant des dimensions micrométriques voire nanométriques. Cette manipulation des fluides est connue sous le terme de "microfluidique". Elle permet de maîtriser toutes opérations sur des cibles comme : le déplacement, la séparation, la distribution, le stockage des réactifs, le mélange, le contrôle des conditions physiques lors des réactions.

Aujourd'hui, de part le développement important des biotechnologies, la microfluidique est devenue un domaine à part entière de la mécanique des fluides, et les technologies associées à la fabrication des substrats dits « lab on chip » sont en pleines évolutions. L'importance de ce développement est autant liée à la demande de manipulation d'échantillons de très petites tailles et de quantités très faibles, mais aussi par l'intérêt d'augmenter le rapport « surface sur volume » lors de réactions chimiques surfaciques, ce qui est notamment le cas lors des études SPR.

En effet, pour être compétitif, un biocapteur doit pouvoir travailler *in situ* en milieu liquide, sur de très petits volumes de solution avec des concentrations souvent très faibles. A titre d'exemples, la détection de virus ou de certaines hormones nécessite une sensibilité à des concentrations voisines de la femtomoles/litre. La microfluidique permet alors d'accélérer les bioreconnaissances. Le contrôle des écoulements dans des capillaires dont la section ne dépasse pas quelques dizaines de microns permet, d'une part, de réduire les volumes analysés. D'autre part, il permet de contrôler la localisation d'entités moléculaires ou cellulaires se déplaçant dans le flux liquide afin d'opérer leur fixation sur la surface sensible (ou bioreconnaissance). Ainsi, couplés aux biocapteurs, les dispositifs microfluidiques permettent aujourd'hui d'automatiser et d'augmenter les débits pour réaliser des criblages complexes sur des entités cellulaires ou moléculaires [1-4].

Concrètement, les deux composants principaux d'un système microfluidique sont les capillaires ou canaux et les chambres de réactions. Des substrats solides (lab-on-chip) sont souvent utilisés pour former les canaux et les cuvettes. Les dimensions de ces canaux peuvent aller d'une centaine de microns à quelques dizaines de nanomètres. La dimension des canaux est importante car elle détermine le régime « laminaire » ou « turbulent » du fluide. Le calcul du nombre de *Reynolds* permet alors de prévoir le type d'écoulement. Ce nombre est obtenu en fonction de la viscosité (le frottement des molécules d'un fluide ayant un impact sur son écoulement), de la vitesse d'écoulement ainsi que du diamètre du capillaire. En particulier, il est facile de montrer que pour les dimensions réduites des canaux utilisés en microfluidique, des écoulements laminaires sont le plus souvent observés.

Notons qu'en microfluidique, il est possible de travailler en flux à phase simple ou en flux à phase multiple. En phase simple, un seul fluide est utilisé pour l'analyse. Le flux à phase simple est le plus utilisé en biotechnologie. Il est injecté avec une pression constante en utilisant une micro-pompe ou une seringue, ce qui sera le cas pour notre étude. Une injection de deux (ou plusieurs) fluides dans le même traitement est souvent appelé flux à deux phases (ou flux à phase multiple), mais ce cas ne sera pas traité dans ce travail.

IV-2-2 Dispositif expérimental

Dans cette étude, nous nous sommes donc fixés d'étudier et de modéliser dans un premier temps (i) les écoulements et le transport de masse par diffusion et advection à l'intérieur d'une cellule microfluidique de nanoparticules (molécules cibles) sans tenir compte des réactions chimiques aux interfaces puis (ii) de compléter la modélisation par la prise en compte de la réaction d'hybridation des molécules cibles avec les ligands, (iii) et enfin de montrer l'influence des paramètres physico-chimiques intervenant lors de cette réaction. La cellule mise au point pour cette étude est schématisée sur la figure IV-1 et elle permet de mesurer la réponse optique du capteur en fonction de l'approvisionnement en analyte.

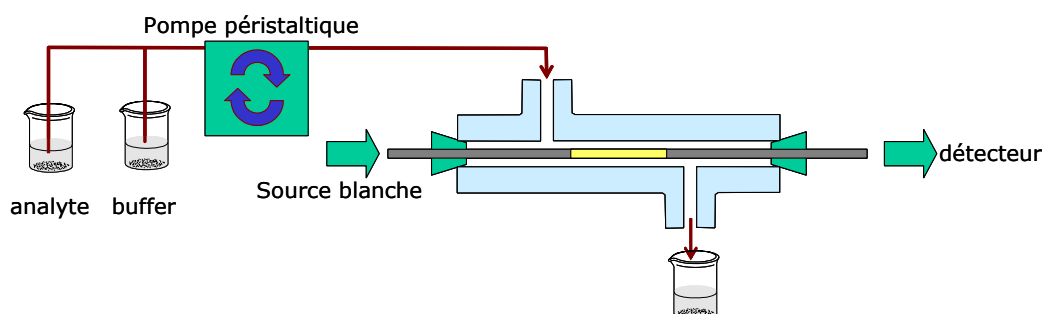


Figure IV-1 : Schéma de principe de la cellule utilisée dans cette étude.

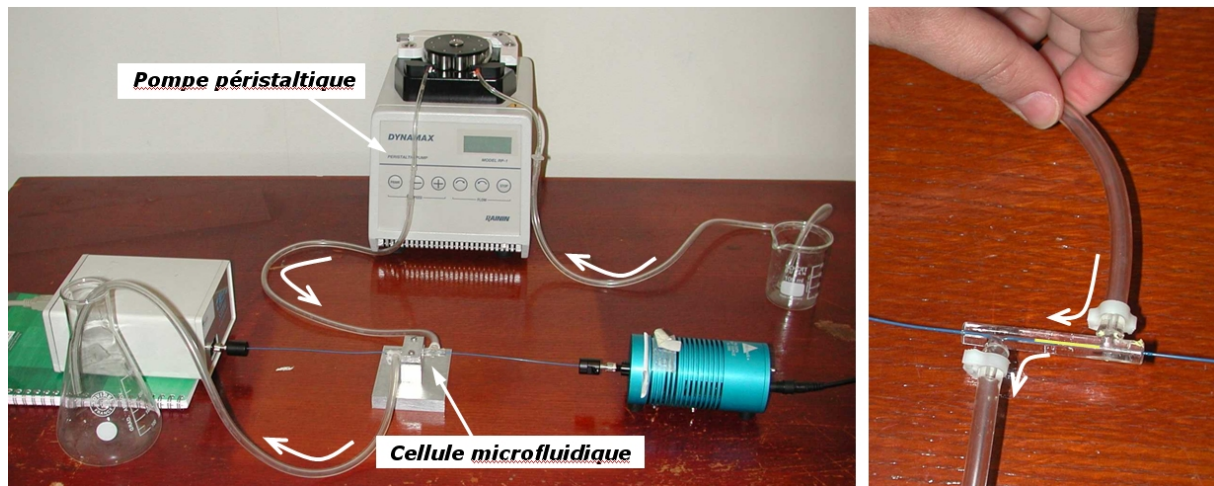


Figure IV-2 : Photos du dispositif expérimental et de la cellule.

Le système microfluidique est constitué d'une pompe, de canaux de diamètre interne 1 mm, et d'une cellule traversée par la fibre optique capteur (figure IV-2). Les interactions vont ainsi se produire à la surface de la zone sensible lors de l'écoulement du fluide. Schématisée figure IV-3, l'adsorption de particules cibles sur la surface va automatiquement se traduire par une variation du signal optique transmis dans la fibre optique par effet SPR. Simultanément, un gradient de concentration va se créer dans une zone dite « zone limite de concentration » en surface de la fibre, augmentant les phénomènes de diffusion, et modulés par l'approvisionnement en solution (phénomène d'advection/diffusion). Ceci se traduira alors par l'établissement plus ou moins rapide d'un équilibre de concentration en surface de molécules cibles visualisé par les courbes nommées « sensorgrammes » (figure IV-3, droite).

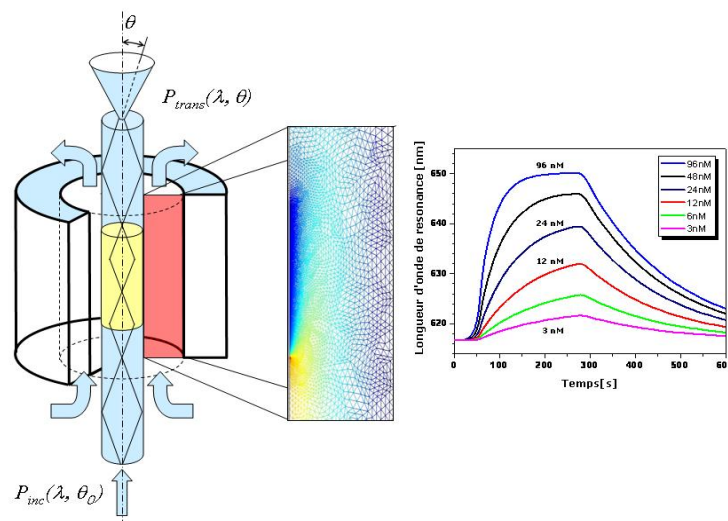


Figure IV-3 : Principe de fonctionnement et de mesure du capteur SPR à fibre optique.

Nous allons par la suite décrire la pompe et la cellule d'interaction que nous avons choisies pour faire nos mesures.

- **Pompe**

Nous avons équipé notre système avec une pompe péristaltique dans laquelle le fluide est acheminé par compression des canaux souples où il circule. L'écrasement d'un tube flexible par les galets de la pompe entraine le contenu des canaux, et aspire le fluide qui sera alors poussé par le rouleau suivant (figure IV-4). Les différentes solutions sont préparées dans de petits flacons. L'injection se fait alors simplement en immergeant l'extrémité du canal dans le flacon.

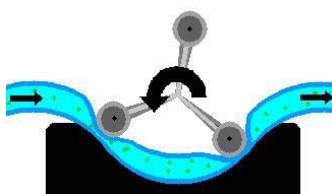


Figure IV-4 : principe de fonctionnement d'une pompe péristaltique : l'analyte circule de gauche à droite par le mouvement de rotation des rouleaux.

Les avantages de cette pompe sont les suivants :

- Faible prix
- La pompe n'a aucun contact direct avec les différentes solutions injectées
- Les canaux souples sont simples d'utilisation

Le contrôle précis du débit dépend des réglages (pression des galets sur le canal et le nombre de tour par minute). L'inconvénient de cette pompe est que la circulation du liquide se fait par aspiration, ce qui laisse passer parfois des bulles d'air dans le canal. Il serait donc nécessaire d'utiliser une vanne permettant de n'aspirer que du liquide durant l'expérience.

- **Cellule d'interactions**

Elle est caractérisée par sa forme et sa taille, sa forme va définir l'écoulement de l'analyte autour de la zone sensible tandis que sa taille va définir la quantité maximale du fluide que nous allons pouvoir mettre en contact avec la surface d'or.

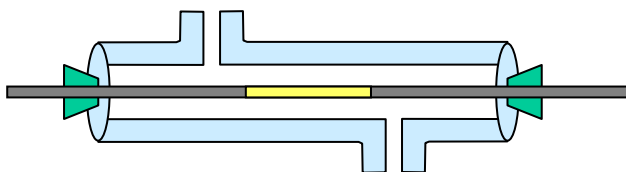


Figure IV-5 : Cellule d'interaction.

Nous avons utilisé une cellule en verre cylindrique (capillaire) de diamètre 1000 μm suffisamment grande pour plonger notre fibre optique de diamètre de cœur compris entre 300 μm et 400 μm . La forme cylindrique permet donc une circulation homogène de l'analyte autour de la fibre. Cette cellule de longueur 5 cm, correspond à un volume

d'environ 40 μL . l'injection se fait alors par une ouverture de diamètre 1 mm en haut de la cellule et la sortie par une autre ouverture de même diamètre en bas de cette cellule (figure IV-5).

IV-2-3 Réponse expérimentale du système lors de l'injection de solutions références

La validité de notre système a été vérifiée en injectant successivement dans la cellule, au contact d'une zone sensible recouverte d'une couche mince d'or, de l'eau et des solutions eau/glycérol de différents indices. La figure (IV-6) décrit l'évolution du spectre de la puissance lumineuse transmise au cours du temps (pendant 160 sec) lors du passage de l'injection de l'eau pure d'indice 1,3335 à une solution de 5,43 M de glycérol aqueuse qui correspond à une valeur d'indice $n_s = 1,3820$. Notons que le flux d'injection mesuré durant l'enregistrement du spectre est de 2,0 ml/min ce qui correspond à une vitesse d'écoulement au niveau de la zone sensible de 45 mm/s.

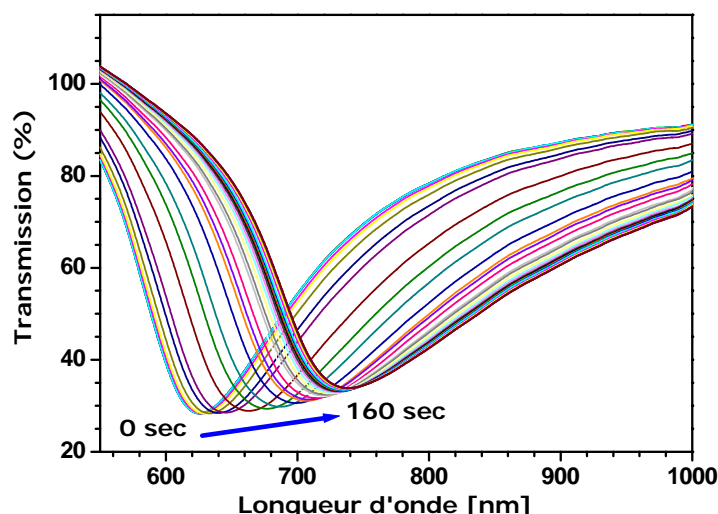


Figure IV-6 : réponse spectrale du capteur SPR à fibre optique durant l'injection d'une solution glycérol/eau ($n_s = 1,3820$).

L'évolution de la puissance transmise lors de l'injection en continue de la solution d'eau/glycérol d'indice plus élevé que celui de l'eau, se traduit sur la figure IV-6 par un décalage progressif des pics de résonance les uns par rapport aux autres.

La figure IV-7 illustre le saut de la puissance lumineuse transmise pour une longueur d'onde $\lambda = 600$ nm (choisie de façon à avoir la variation la plus importante). L'évolution de la longueur d'onde de résonance au cours du temps est présentée en figure IV-8. Dans les deux cas, une saturation est observée pour $t > 100$ s. Nous voyons que la longueur d'onde de résonance varie quasi linéairement à mesure que le front de liquide avance.

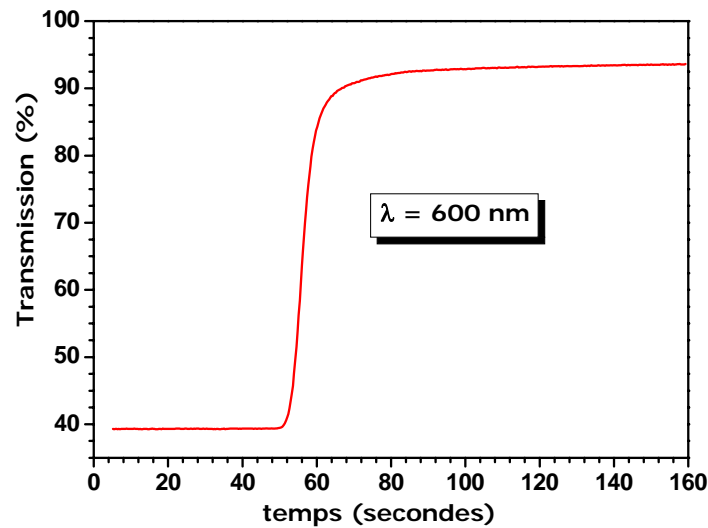


Figure IV-7 : Variation de la transmission de la lumière en fonction du temps : courbe enregistrée pour une longueur d'onde fixée à 600nm.

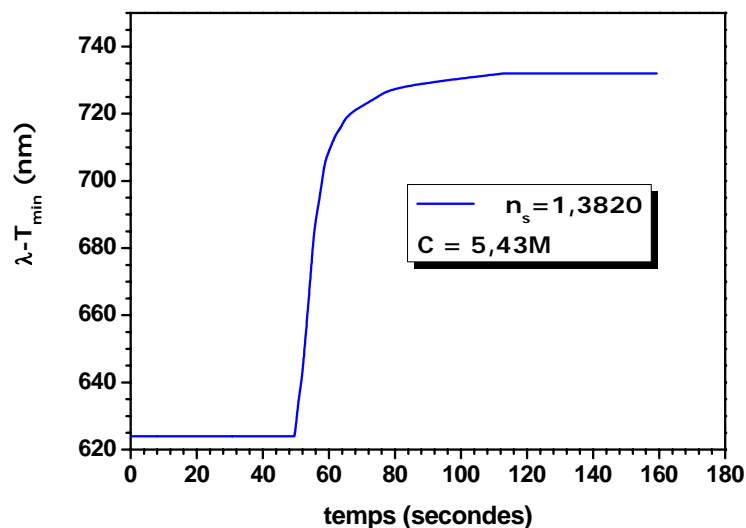


Figure IV-8 : Evolution de la longueur d'onde de résonance en fonction du temps : courbe enregistrée durant l'injection d'une solution eau/glycérol d'indice $n_s=1,3820$.

Sur les figures IV-7 et IV-8, l'évolution de la transmission et de la longueur d'onde de résonance s'effectue de manière régulière mais la transition s'étale au delà d'une seconde alors que le fluide s'écoule à une vitesse de 45 mm/s et que la zone sensible ne fait que 20 mm (figure IV-9). Ceci traduit clairement la diffusion (dilution) du glycerol dans l'eau et donc un front de liquide moins franc que ce que l'on aurait pu imaginer. Cette remarque montre que la prise en compte unique de l'écoulement (laminaire) serait incomplète, d'où la nécessité de tenir compte de la diffusion dans la modélisation. Enfin l'évolution se stabilise au moment où la cellule est complètement remplie de solution de glycérol (1,3820).

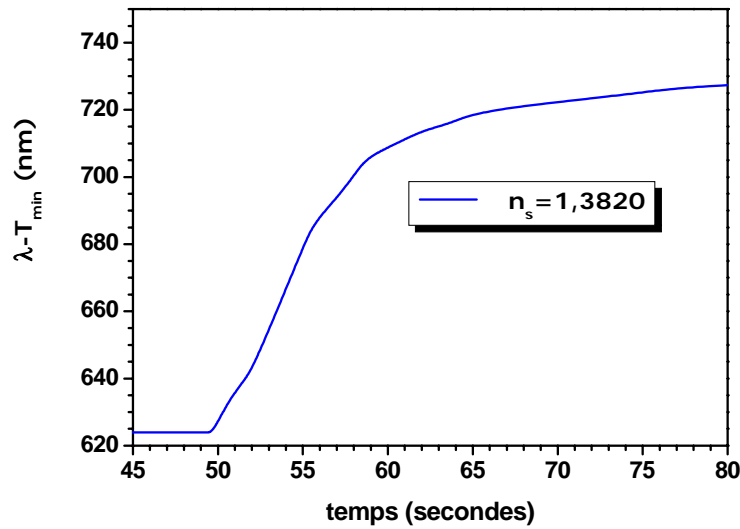


Figure IV-9 : Zoom de la figure IV-8 entre 45 et 80 secondes.

IV-3 Modélisation du capteur d'indice à fibre optique

Afin de modéliser dans une première étape les expériences précédentes, nous avons du coupler au calcul de la réflectivité optique, les effets de transport de matière. Les équations utilisées pour résoudre les écoulements dans un système microfluidique dérivent généralement des équations de Navier-Stokes et sont accompagnées d'hypothèses simplificatrices, associées à des considérations sur la géométrie des canaux en particulier. Avant de présenter l'ensemble des équations générales de la mécanique des fluides sur lesquelles sont basées les équations régissant l'écoulement et implémentées dans notre modèle, nous présenterons rapidement les hypothèses initiales.

IV-3-1 Ecoulement laminaire

Lorsqu'un fluide s'écoule dans une conduite, il s'exerce une résistance visqueuse qui crée une chute de pression le long de la conduite qui s'appelle aussi perte de charge. Selon l'importance de cette chute de pression, le système d'écoulement peut être soit laminaire, soit turbulent. Pour des conditions aux limites constantes imposées à l'écoulement, *Reynolds* a montré en 1883 qu'il est possible d'anticiper le type d'écoulement (laminaire ou turbulent) suivant la valeur d'un nombre sans dimension appelé « nombre de Reynolds », généralement noté Re :

$$Re = \frac{\rho \times V \times L}{\eta} \quad (IV-1)$$

où V est la vitesse typique de l'écoulement (m/s), ρ la masse volumique (kg/m³), L est la taille caractéristique du canal (m) et η est la viscosité du fluide (Pa.s ou kg/m/s).

Lorsque Re est faible ($Re < 1000$), les lignes de courant sont stationnaires et l'écoulement est dit laminaire. Au contraire lorsque Re est grand ($Re > 2000$) les lignes de courant deviennent instationnaires et l'écoulement est dit turbulent. Le passage d'un régime laminaire à un régime turbulent se fait généralement lorsque Re est compris entre 1000 et 2000 [5].

La différence principale entre les systèmes macroscopiques et microscopiques, est que dans la plupart des cas, les flux macroscopiques sont turbulents tandis que les flux microscopiques sont laminaires. Dans le domaine des biotechnologies et de la microchimie, le caractère laminaire de l'écoulement est souvent très élevé. L'écoulement se fait avec une vitesse très faible, et il est donc généralement stable. Cette stabilité est liée à la valeur du nombre de Reynolds qui diminue lorsque la taille du système diminue.

Dans notre cellule, les canaux ont une dimension caractéristique d'environ 300 μm (dans la zone de mesure), et nous avons travaillé avec des vitesses caractéristiques du fluide de l'ordre de 1 à 50 mm/sec. Le calcul donne, pour une viscosité de l'eau de 10^{-3} Pa.s et une masse volumique de 1000 Kg/m^3 un nombre de Reynolds :

$$Re = \frac{10^3 \times 10 \cdot 10^{-3} \times 0,3 \cdot 10^{-3}}{10^{-3}} = 3 \quad (\text{IV-2})$$

Ce faible nombre de Reynolds montre qu'à ces échelles, la turbulence est absente dans notre système microfluidique et que les écoulements à modéliser seront laminaires. Cette hypothèse simplifie considérablement les modélisations, car le flux peut être alors modélisé par les équations bien connues de Naviers-Stokes.

IV-3-2 Fluide Newtonien et non-Newtonien

Une deuxième considération d'importance est de statuer sur le comportement visqueux de l'analyte. Soit un fluide homogène dans lequel chaque élément du fluide glisse parallèlement l'un sur l'autre sans se mélanger, si le fluide est visqueux et s'il existe un gradient de vitesse entre les deux filets adjacents, le flux de cisaillement entre les deux éléments de fluide parallèles et adjacents est donné par la loi de Newton :

$$\vec{\tau} = -\mu \cdot \vec{\nabla} u \quad (\text{IV-3})$$

Dans le cas le plus général, $\vec{\tau}$ représente le tenseur des contraintes exprimé en N/m^2 . Pour un écoulement unidirectionnel et présentant un profil de vitesse $u(y)$ selon la direction normal y (type *Hagen Poiseuille*), la relation de Newton se réduit à la relation :

$$\tau = -\eta \times \frac{\partial u}{\partial y} \quad (\text{IV-4})$$

où η est la viscosité dynamique du milieu, (kg/m/s ou Pa.s dans le système international).

Si cette viscosité est indépendante du gradient de vitesse, le fluide sera dit newtonien. Dans le cas contraire, le fluide sera dit non-newtonien. Signalons que la plupart des liquides biologiques comme le sang ou les liquides tampons concentrés formés de macromolécules et/ou polymères présentent un comportement non-Newtonien, particulièrement en régime transitoire [1].

Mais dans notre cas, comme les biocapteurs imposent généralement de travailler *in situ* en milieu aqueux à des concentrations faibles, nous nous limiterons dans notre travail à des fluides incompressibles, homogènes et Newtoniens.

IV-3-3 Equations de Navier-Stokes

Dans le cadre d'écoulements laminaires, les formes différentielles de l'équation de continuité et de l'équation de conservation des quantités de mouvement peuvent être obtenues à partir des relations intégrales sur un volume élémentaire et par l'application du théorème de la divergence. Pour un fluide newtonien et avec la pesanteur comme seule force de volume agissant sur le domaine considéré, les équations régissant l'écoulement peuvent être exprimées ainsi :

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \mathbf{V} = 0 \quad (\text{IV-5})$$

$$\rho \frac{D\mathbf{V}}{Dt} = \rho \left[\underbrace{\mathbf{V} \cdot \nabla \mathbf{V}}_{(2)} + \underbrace{\frac{\partial \mathbf{V}}{\partial t}}_{(3)} \right] = -\underbrace{\nabla p}_{(4)} + \underbrace{\rho \mathbf{g}}_{(5)} + \underbrace{\eta \Delta \mathbf{V}}_{(6)} \quad (\text{IV-6})$$

Avec \mathbf{V} le vecteur vitesse (m/s), ρ la densité du fluide, t le temps, p la pression, g l'accélération gravitationnelle, η la viscosité de la solution, $\partial/\partial t$ la dérivée par rapport au temps et $D/Dt = \partial/\partial t + u \partial/\partial x + v \partial/\partial y + w \partial/\partial z$.

Les termes 1, 2, et 3 de l'équation IV-6 représentent l'accélération totale, convective, et locale respectivement. Le terme 4 représente la force de pression, le terme 5 la force de la pesanteur, et le terme 6 les effets visqueux. Pour les écoulements laminaires incompressibles, la densité et la viscosité sont supposées constantes dans les équations IV-5 et IV-6. Ces équations représentent un ensemble complet à quatre équations pour quatre inconnues, à savoir, la pression et les trois composantes de la vitesse. Pour des écoulements non visqueux, le dernier terme de l'équation IV-6 est nul. Dans la plupart des écoulements internes, le cinquième terme de l'équation IV-6, ρg est négligé.

Ainsi, si nous considérons un fluide Newtonien et incompressible, en négligeant le terme de pesanteur, les équations peuvent alors être simplifiées :

L'équation de continuité sera donnée par :

$$\nabla \cdot \mathbf{V} = 0 \quad (\text{IV-7})$$

L'équation de quantité de mouvement par:

$$\rho \frac{\partial \vec{V}}{\partial t} = -\vec{\nabla} p + \mu \Delta \vec{V} \quad (\text{IV-8})$$

Signalons que dans le cas où il y a un changement de température du liquide (ce que nous ne traiterons pas dans cette thèse), l'équation de conservation d'énergie est ajoutée pour compléter le système d'équations précédent. Cette équation est basée sur l'équation thermodynamique, qui s'écrit sous la forme:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \nabla T) + \Phi \quad (\text{IV-9})$$

Le premier terme de gauche de l'équation IV-9 représente la variation d'enthalpie, Φ le travail des efforts de pression et de cisaillement, et $\nabla \cdot (k \nabla T)$ le transfert de chaleur par conduction dans le fluide avec k le coefficient de conductivité thermique.

IV-3-4 Profil de vitesse entre deux plaques parallèles

Il existe trois formes des micro-tubes pour l'écoulement : cylindrique, rectangulaire et deux plaques parallèles. *Hagen-Poiseuille* ont défini le profil de vitesse pour ces trois formes. Dans notre cas, nous considérons l'écoulement de l'analyte autour de la zone sensible comme un écoulement parallèle entre deux plaques parallèles (paroi de la cellule et surface de la zone sensible) séparées par une distance $2d$ faible, l'axe x coïncide avec l'axe de la fibre (figure IV-10). L'analyte est toujours considéré comme un fluide homogène Newtonien, incompressible en écoulement laminaire selon l'axe x .

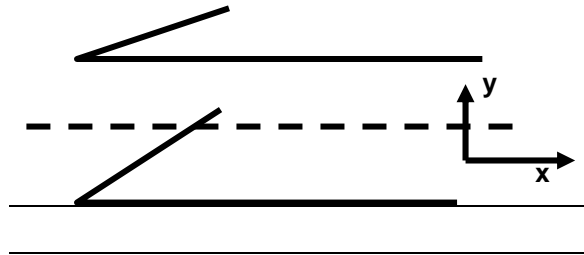


Figure IV-10 : Schéma représentant la paroi de la cellule et la surface de la zone sensible.

Dans la mesure où les deux surfaces sont de grandes dimensions par rapport à la distance entre les deux plans, nous avons fait l'approximation de ramener l'étude de l'écoulement à celle d'un écoulement plan (Figure IV-11).

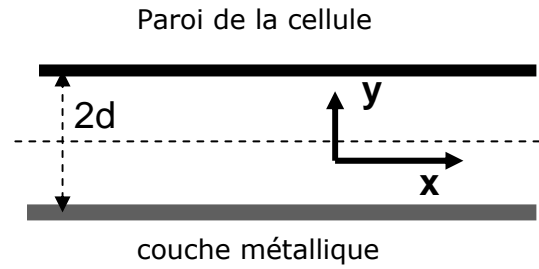


Figure IV-11 : Schéma représentant la distance entre les deux plans.

L'équation de la continuité ($\nabla \cdot \mathbf{V} = 0$ avec $\mathbf{V}(u, v, w) = \mathbf{V}(u, 0, 0)$) impose $\frac{\partial u}{\partial x} = 0$.

La projection de l'équation de conservation de quantité de mouvement (équation IV-6) donne alors:

$$\begin{aligned} 0 &= -\frac{\partial p}{\partial x} + \eta \Delta u \\ 0 &= \frac{\partial p}{\partial y} \\ 0 &= \frac{\partial p}{\partial z} \end{aligned} \quad (\text{IV-10})$$

Le profil de vitesse dans le conduit est donc donné par la résolution de l'équation différentielle suivante :

$$\eta \frac{d^2 u}{dy^2} = \frac{\partial p}{\partial x} \quad (\text{IV-11})$$

avec η et $\partial p / \partial x$ des constantes. Les conditions aux limites donnent $u(d) = u(-d) = 0$: vitesses nulles aux parois. Finalement, pour un écoulement laminaire entre deux plaques parallèles, on trouve le profil de vitesse (figure IV-12) donné par :

$$u(y) = u_{\max} \left[1 - \left(\frac{y}{d} \right)^2 \right] \quad (\text{IV-12})$$

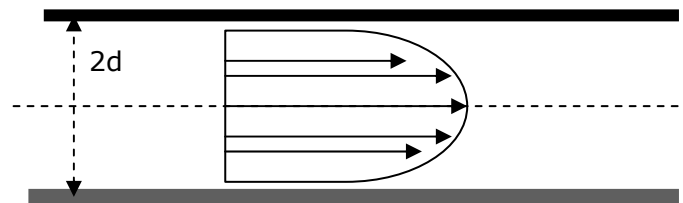


Figure IV-12 : Profil de vitesse de Hagen-Poiseuille entre deux plaques parallèles.

avec une vitesse maximale :

$$u_{\max} = -\frac{1}{2\mu} \left(\frac{\partial P}{\partial x} \right) = \frac{3}{2} \bar{U} \quad (\text{IV-13})$$

où \bar{U} est la vitesse moyenne de l'écoulement définie par :

$$\bar{U} = \frac{1}{S} \iint \bar{v} d\bar{S} \quad (\text{IV-14})$$

avec S la section du conduit. Ces équations montrent que le profil de vitesse ne dépend que de y et varie de manière parabolique entre les deux plaques.

IV-3-5 Equation de transport par diffusion et advection (convection forcée)

Dans une solution biologique, les cibles diluées sont continuellement en mouvement. Suite à leur injection, elles pourront se concentrer, se diriger vers la surface d'interaction, s'associer/se dissocier avec d'autres objets ou sortir de la cellule. Comme nous l'avons indiqué, ces molécules peuvent être considérées comme des nanoparticules ou microparticules dans un fluide porteur en mouvement. La théorie de Navier-Stokes est alors incomplète et nécessite la prise en compte de la diffusion (mouvement brownien) et de la convection forcée. Pour cela, il devient primordial de présenter ces mécanismes de transport.

Il existe donc deux mécanismes de transport des cibles : i) la convection forcée ou advection qui met en jeu le déplacement d'un ensemble de molécules ; ii) la diffusion qui correspond à une succession de déplacements élémentaires dans un système. Le flux de diffusion est proportionnel au gradient de la concentration (∇c). Nous pouvons déduire le flux de masse par diffusion \mathbf{J} (équation IV-15) à l'aide de la loi de Fick :

$$\mathbf{J} = -D \nabla c \quad (\text{IV-15})$$

Avec D le coefficient de diffusion (m^2/s). L'équation d'équilibre des flux conduit alors à la seconde loi de Fick :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla c) + S \quad (\text{IV-16})$$

Avec S un terme source ou de perte de concentration. Par exemple, dans le cas que nous traiterons dans la suite de ce chapitre, si une réaction d'hybridation se produit quelque part dans le domaine, la concentration des molécules cibles pourra localement augmenter ou diminuer. Nous reviendrons sur ce terme dans la seconde partie du chapitre.

Dans notre cas, l'équilibre des flux de particule dans la cellule varie en fonction du flux de convection et du flux de diffusion (si l'on ne tient pas compte pour le moment de la réaction d'hybridation). L'équation qui gouverne le mouvement du liquide sera alors donnée par l'équation d'advection-diffusion suivante :

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla c = \nabla \cdot (D \nabla c) \quad (\text{IV-17})$$

où c est la concentration de l'analyte, D est le coefficient de diffusion donné par le loi de Fick, et u est la vitesse d'écoulement donnée par l'équation IV-12.

De façon analytique, si nous remplaçons le terme de vitesse par sa valeur, en considérant que dans un système microfluidique, le terme de diffusion (selon x) est négligeable devant la convection latérale, l'équation d'advection-diffusion sera écrite sous la forme suivante:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial y^2} \right) - u_{\max} \left[1 - \left(\frac{y}{d} \right)^2 \right] \frac{\partial c}{\partial x} \quad (\text{IV-18})$$

Signalons que nous n'avons pas résolu la modélisation par une méthode analytique mais par la méthode des éléments finis, que nous allons préciser maintenant.

IV-3-6 Résolution par la méthode des éléments finis

Parmi les méthodes d'analyse numérique, les trois grandes méthodes utilisées dans les codes de calculs bidimensionnels et tridimensionnels sont les éléments finis, différences finies et les volumes finis. La méthode des éléments finis consiste à discrétiser l'espace à l'aide des éléments géométriques simples (triangles, rectangles en 2D et tétraèdres, hexaèdres en 3D). Elle convient pour modéliser des géométries très complexes. Ensuite, les équations aux dérivées partielles et les conditions aux bornes sont remplacées par la forme dite faible (weak form ou encore forme intégrale) dans laquelle les inconnues sont calculées à l'aide de combinaisons linéaires de fonctions de base (polynômes d'Hermite) dont le support est un des éléments.

La méthode des éléments finis repose donc sur un découpage de l'espace selon un maillage. D'habitude, on choisit un maillage carré ou triangulaire mais rien n'interdit de choisir des maillages plus complexes. Il n'est pas non plus nécessaire que le maillage soit régulier et l'on a tendance à resserrer le maillage près des endroits d'intérêts (par exemple aux endroits où l'on pense que la solution va beaucoup varier). Plus ce maillage est resserré, plus la solution que l'on obtient par la méthode des éléments finis sera précise et proche de la "vraie" solution de l'équation aux dérivées partielles [6].

- **Mise en œuvre des simulations – implémentation du modèle**

Pour la résolution des équations aux dérivées partielles (EDPs) et pour la discrétisation de l'espace (maillage), le logiciel *Comsol Multiphysics 3.3* a été utilisé. Il présente l'avantage d'être compatible avec *Matlab*, et qu'il est alors possible d'utiliser l'interface *Comsol* pour le dessin, le maillage et l'implémentation du modèle, tout en pouvant récupérer, lire et modifier le script sous *Matlab 7*. Ce point fut extrêmement important pour notre travail car l'étude optique du capteur était écrite sous *Matlab*, nous avons ainsi pu coupler les calculs directement sans avoir à réécrire les programmes.

De plus, *Comsol Multiphysics* dispose d'une base de données d'équations aux dérivées partielles et différents solveurs permettant de résoudre des problèmes multiphysiques couplés de manière faible et forte, correspondant à notre problème.

Pour modéliser notre problème décrit dans les paragraphes précédents, nous avons alors procédé comme suit :

1. déterminer le modèle physique, la géométrie du problème et les conditions aux limites
2. créer le maillage, c'est-à-dire découper l'espace selon des éléments géométriques simples, tout en vérifiant la stabilité des résultats, en particulier dans la couche limite de concentration
3. calculer les variables voulues, le champ de concentration et le taux de recouvrement de la frontière caractérisant la surface fonctionnalisée.

- **Géométrie**

Nous avons réalisé les modélisations sur une géométrie 2D figure IV-13. Ce choix a été motivé par plusieurs raisons, la première étant la symétrie axisymétrique de la cellule qui permet cette approximation. La seconde est liée au maillage et au temps de calcul. Comme nous allons le voir, pour tenir compte du critère de *Peclet*, nous devons avoir des mailles dont la dimension ne devrait pas dépasser quelques microns à l'intérieur et autour de la couche limite. Ceci va nous imposer de prendre des maillages très fins, supérieur à 90.000 éléments (200.000 degrés de liberté) pour notre géométrie 2D. Une modélisation en 3D n'aurait pas été possible avec les meilleurs ordinateurs disponibles à l'IMN.

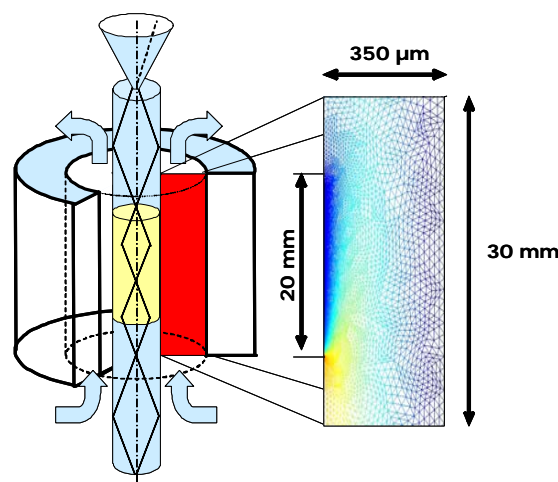


Figure IV-13 : Section plane utilisée pour la simulation.

- **Implémentation des équations, choix des constantes**

Dans toutes nos simulations, nous avons considéré un écoulement laminaire établi. Nous avons donc directement considéré un profil d'écoulement de type *Hagen-Poiseuille*

(équation IV-12), avec la vitesse moyenne est la vitesse déduite des expériences (entre 1 et 50 mm/s), et $2d = 350\mu\text{m}$ la largeur de la zone d'écoulement. Cette vitesse est simplement calculée en divisant le débit donné par la pompe par la section d'écoulement dans la cellule. Nous avons considéré l'eau comme fluide porteur, et les simulations ont été réalisées avec pour densité et viscosité : $\rho = 1000 \text{ Kg/m}^3$ et $\eta = 10^{-3} \text{ Pa.s}$.

Nous avons alors introduit l'équation de diffusion/advection traduisant le transport de masse des microparticules dans le fluide porteur (équation IV-19). La seule constante à définir était le coefficient de diffusion. Ce coefficient est généralement compris entre 10^{-9} et $10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ pour des molécules organiques dans de l'eau. Nous avons choisi arbitrairement une valeur de $10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, proche du coefficient classiquement admis pour les protéines.

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla c = \nabla \cdot (D \nabla c) + R \quad (\text{IV-19})$$

Dans ce modèle, les réactions de la surface n'ont pas été prises en compte dans l'équation du transport de masse et ainsi R a été fixé à 0. Nous reprendrons la valeur de R dans la seconde partie de ce chapitre, lorsque nous introduirons le modèle de *Langmuir*.

- **Conditions aux limites (parois et entrée-sortie)**

Il existe plusieurs formes de conditions limites de l'équation de transport [1]. Les conditions les plus connues sont :

1. Condition de Dirichlet : $c=0$

Dans ce cas, la concentration des analytes s'annule sur la paroi. Cela revient à dire qu'il y aura une adhésion totale des particules.

2. Condition de Neumann : $\frac{\partial c}{\partial n} = 0$

où n est le vecteur normal à la paroi. Dans ce cas, il n'y a pas de flux de masse au niveau de la paroi. Il n'y aura donc aucune adhésion entre les particules transportées et la paroi.

3. Condition d'interactions

Dans notre cellule, le flux de particules à la surface d'interaction est affecté par une réaction biochimique. Par conséquent, les conditions limites deviennent plus compliquées. Dans ce cas, le flux de masse à la surface est déterminé par la cinétique de réaction et la condition limite de Neumann est écrite sous la forme suivante :

$$-D \frac{\partial c_{surf}}{\partial n} = \frac{d\Gamma}{dt} \quad (\text{IV-20})$$

où $\frac{d\Gamma}{dt}$ est lié à la cinétique de réaction.

Ainsi, une couche limite de concentration se développe le long de la surface en fonction du flux et de la réaction à la surface, que nous détaillerons dans la seconde partie de ce chapitre.

Enfin, nous avons considéré qu'à l'instant initial ($t=0$), la concentration est $c=0$. Pour la surface d'entrée, la concentration est constante et égale à la concentration injectée C_0 . Pour la surface de sortie nous avons fixé une simple condition de continuité, en supposant que l'analyte sort entièrement de la cellule par convection, on a donc :

$$\mathbf{n} \cdot (-D\nabla c) = 0 \quad (\text{IV-21})$$

$$\mathbf{n} \cdot (-D\nabla c + c\mathbf{u}) = \mathbf{n} \cdot c\mathbf{u} \quad (\text{IV-22})$$

Pour la paroi de la cellule considérée comme non réactive à ce stade de l'étude, nous avons fixé une condition de Neumann (variation de concentration de l'analyte nulle sur les parois), on a alors :

$$\mathbf{n} \cdot (-D\nabla c + c\mathbf{u}) = 0 \quad (\text{IV-23})$$

- **Considération sur le maillage**

La faible épaisseur de la couche limite de concentration (figure IV-14) a de forte conséquence sur le calcul numérique. Il est en effet essentiel de modéliser précisément le transfert de masse dans cette région car cela déterminera le transfert de masse à l'interface elle-même. Pour faire cela, la discrétisation impose d'avoir au moins deux éléments (maille) dans la couche limite.

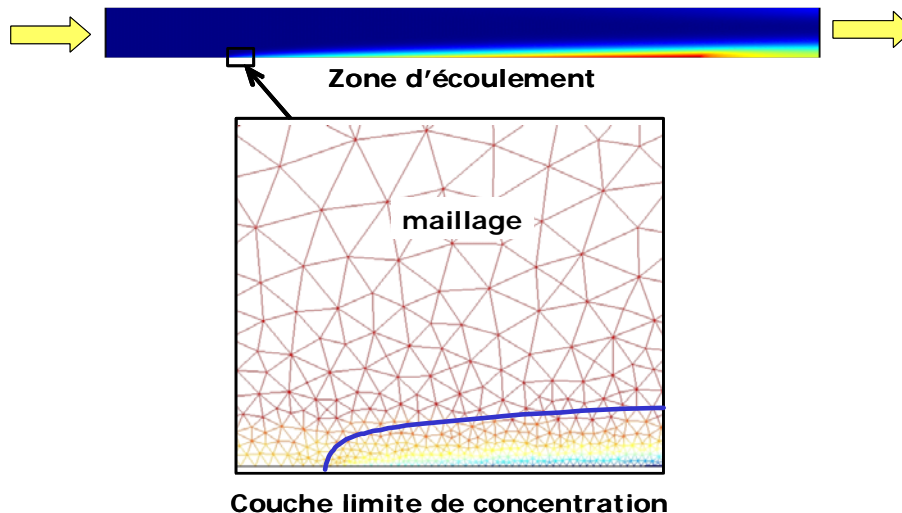


Figure IV-14 : Mise en évidence de la couche limite de concentration lors de l'écoulement de l'analyte au voisinage de la surface réactive.

Pour éviter les instabilités numériques, il est alors nécessaire de réduire la taille des éléments du maillage dans la couche limite, et tout particulièrement quand la couche

commence. Ceci nous a conduits à définir des tailles d'éléments de quelques microns. Signalons que ce choix n'est pas sans conséquence sur les temps de calculs...

Le taux de recouvrement de la surface active (ou la concentration) est alors extrait en fonction du temps de ces simulations et les résultats obtenus sont directement utilisés pour le calcul des courbes de puissance transmise par la fibre optique avec le code présenté au Chapitre II. En effet, à partir des simulations, les variations de concentration en fonction du temps à la surface du capteur peuvent être extraites (modèle (advection/diffusion)). A partir de cette concentration moyenne obtenue par l'intégration de la concentration sur toute la longueur de la zone sensible, nous pouvons calculer un taux de recouvrement moyen et remonter à un indice de réfraction moyen en surface $\bar{n}_s = \tau \times n_s$.

$$\tau = \frac{\bar{c}}{c_0} = \frac{1}{c_0} \int_0^L c \cdot d\ell \quad (\text{IV-24})$$

IV-3-7 Résultats numériques et comparaisons

La figure IV-15 présente les courbes expérimentales et simulées de la transmission de la lumière à 600 nm en fonction du temps écoulé à partir de l'injection de la solution de glycérol dans la cellule.

Notons que nous avons démarré le calcul après 50s, ce qui correspond au temps nécessaire pour que la solution commence à pénétrer dans la cellule après son injection dans le canal. Ces simulations sont obtenues pour une longueur d'onde fixe ($\lambda = 600$ nm) avec une fibre optique dont la zone sensible est recouverte d'or. La valeur de la concentration C_0 de la solution eau/glycérol est constante à 5,43 M ($n_s = 1,3820$), le coefficient de diffusion (D) de glycérol dans l'eau a été fixé à $10^{-9} \text{m}^2/\text{s}$ et la vitesse d'écoulement estimée à $\bar{U} = 10$ mm/s.

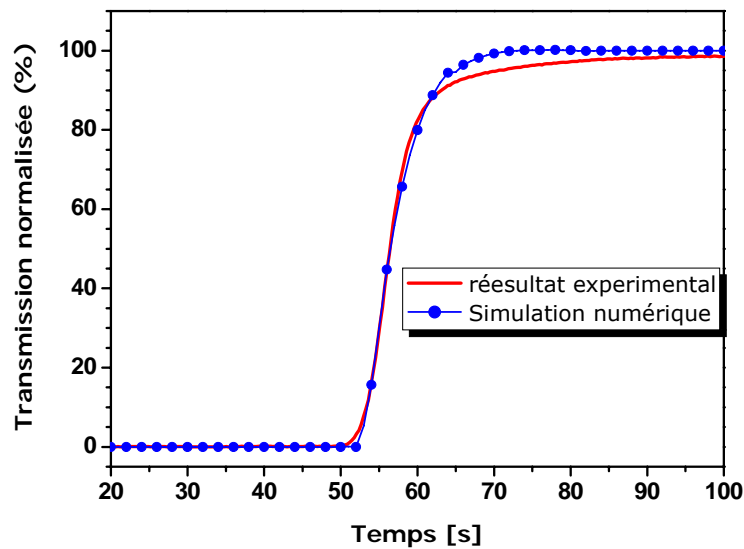


Figure IV-15 : Réponse optique en temps réel obtenue à une longueur d'onde fixée à 600 nm ($\bar{U} = 10 \text{ mm/s}$; $D=10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$; $C_0 = 5,43 \text{ M}$).

Sur la figure IV-16, nous présentons l'influence de la vitesse moyenne \bar{U} de l'écoulement sur la réponse du capteur. Nous remarquons plus nettement sur la figure IV-17 où les courbes ont été décalées en ordonnée, qu'une augmentation de la vitesse augmente la pente de la courbe, et fait évoluer brutalement le signal SPR. Un changement brusque de l'indice de la solution de 1,3335 à la valeur de la solution de glycérol (1,3820) est observé. Dans ce cas, le transport de masse par diffusion est donc négligeable par rapport à la convection. Par contre si la vitesse diminue, nous observons un changement progressif du signal, ce qui traduit alors les effets de diffusion du glycérol dans l'eau (figure IV-17).

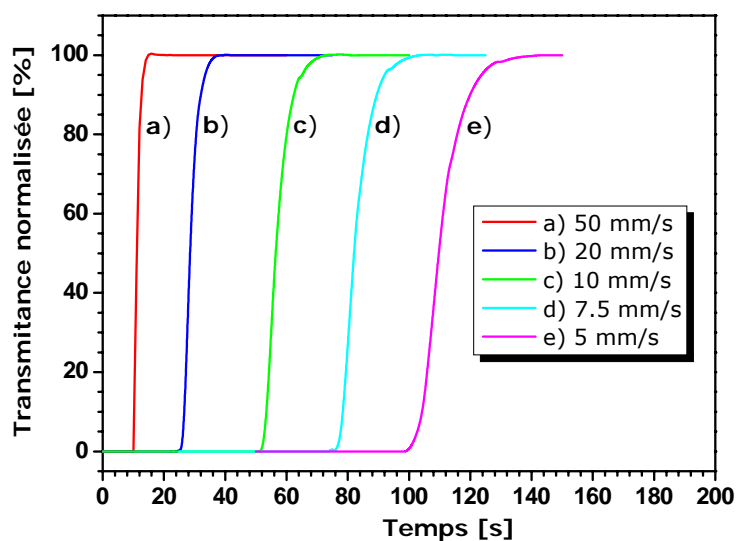


Figure IV-16 : Réponse du capteur en fonction du temps pour différentes valeurs de la vitesse moyenne d'écoulement.

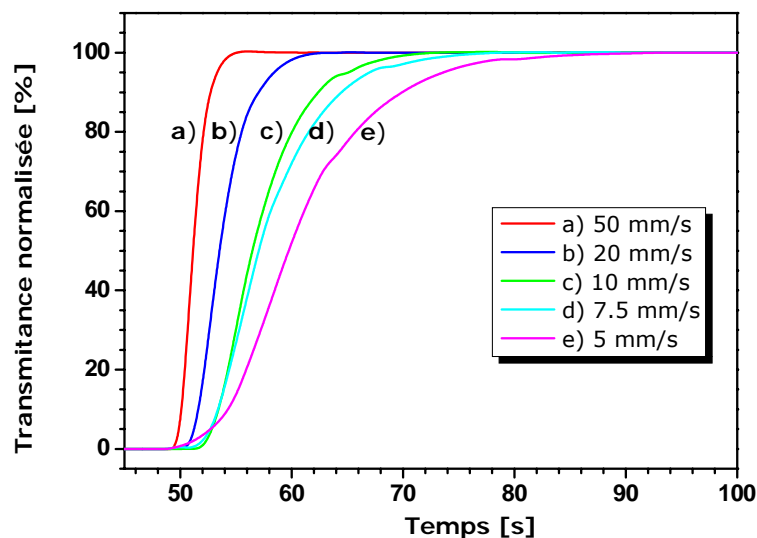


Figure IV-17 : Réponses du capteur en fonction du temps pour différentes valeurs de la vitesse moyenne d'écoulement. Ici les courbes ont été décalées afin de faire apparaître les différences de profil.

IV-4 Mesure de réactions biochimiques de type « Key-lock »

Fondamentalement, l'objectif d'un capteur SPR ou plus généralement d'une biopuce, est l'analyse et la reconnaissance de macromolécules cibles (ADN, protéines,...). Le processus d'identification doit être rapide, sensible et fiable. Généralement, la « bio-reconnaissance » est basée sur un mécanisme dit clé-verrou (key-lock), ce qui va naturellement nous conduire à introduire les concepts de cinétique des réactions chimiques et biochimiques. Ensuite, nous serons amenés à présenter le couplage entre les réactions chimiques à la surface de notre capteur, et le transport des molécules cibles par advection/diffusion. Nous comparerons alors les résultats de nos modélisations aux résultats de la littérature, avant d'en déduire pour conclure les performances et perspectives de notre capteur SPR à fibre optique.

Tout d'abord, rappelons que dans une microcellule, une réaction moléculaire peut être réalisée de deux façons différentes: la première est dite homogène lorsque les ligands et les analytes sont mélangés dans le volume de la cellule, la seconde est dite hétérogène lorsque les ligands sont situés sur la surface d'interaction et les analytes en solution.

Les réactions hétérogènes sont largement utilisées dans les microsystèmes (biopuces, biocapteurs...) [3]. Elles sont souvent plus avantageuses que les réactions homogènes pour deux raisons principales : (i) d'une part, car la surface fonctionnalisée peut être réutilisée après le « lavage » de la cellule de réaction, (ii) les réactions hétérogènes permettent une détection généralement plus simple des couples (ligand-analyte) formés sur la surface de la zone sensible. Ainsi il est nécessaire de passer par deux étapes: l'immobilisation du ligand sur la surface de réaction, puis l'injection de l'analyte, au lieu d'utiliser un système microfluidique complexe où les analytes et les ligands se mêlent et

se couplent en même temps dans la cellule. Dans notre étude, nous avons étudié les réactions hétérogènes.

On peut définir une réaction biomoléculaire comme l'association de deux molécules pour former un « complexe », par exemple un couple antigène/anticorps ou deux monobrs complémentaires d'ADN. Dans notre étude, nous allons nous intéresser aux cinétiques des réactions à la surface fonctionnalisée solide (réaction hétérogène). Parmi les différents modèles de réactions moléculaires hétérogènes, nous avons choisi de nous baser sur le modèle de *Langmuir* (1942). Ce modèle est souvent utilisé pour l'étude de la dynamique de réactions moléculaires dans les biopuces et biocapteurs SPR [1,4, 7]. Ce modèle met en jeu les notions de phénomènes d'association et/ou de dissociation qui détermine l'affinité d'un ligand (L) pour un analyte (A).

IV-4-1 Modèle de Langmuir

Le modèle de *Langmuir* suppose que les réactions mettent en jeu un Ligand **L** et un analyte (ou cible) monovalent **A** qui vont réagir exclusivement entre eux pour former une couche organique **LA**. Cette couche va se greffer sur la surface de la couche métallique par des liaisons d'origine non-covalentes (liaisons hydrogènes, interactions de van der Waals ou Coulombiennes). Ce modèle d'adsorption dit modèle de *Langmuir* est largement utilisé pour décrire des phénomènes d'adsorption de particules sur une surface dans le cas où le nombre de sites d'adsorption sur la surface est fixe, c'est à dire que chaque site ne peut adsorber qu'une seule particule et que les interactions entre les particules sont négligées [1].



Dans le cas où l'interaction n'est pas limitée par le transport de masse, le taux de formation des complexes suit la loi suivante :

$$\frac{d[LA]}{dt} = k_{ass} \cdot [A] \cdot [L] - k_{diss} [LA] \quad (IV-25)$$

où

[A] : la concentration en ligands

[L] : la concentration en analytes

[LA] : la concentration en complexes ligand-analyte

avec k_{ass} est la constante d'association de la réaction en $M^{-1}s^{-1}$, k_{diss} est la constante de dissociation de la réaction en s^{-1} .

L'équation IV-25 peut être simplifiée en admettant que la concentration de l'analyte reste constante (due à l'injection continue) et que la concentration effective du ligand correspond à la différence entre la concentration totale et celle du ligand lié à l'analyte. Elle peut être écrite comme suit :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = k_{ass}c_0(\Gamma_0 - \Gamma) - K_{diss}\Gamma \quad (IV-26)$$

Pour simplifier l'équation, nous avons noté $\Gamma = [LA]$, $C_0 = [A]$ et $\Gamma_0 = [L]$.

L'intégration de l'équation IV-26 conduit à :

$$\frac{\Gamma}{\Gamma_0} = \frac{k_{ass}c_0}{k_{ass}c_0 + k_{diss}} [1 - e^{-(k_{ass}c_0 + k_{diss})t}] \quad (IV-27)$$

A partir de cette relation, nous obtenons, la cinétique de la concentration en surface présentée sur la figure (IV-11).

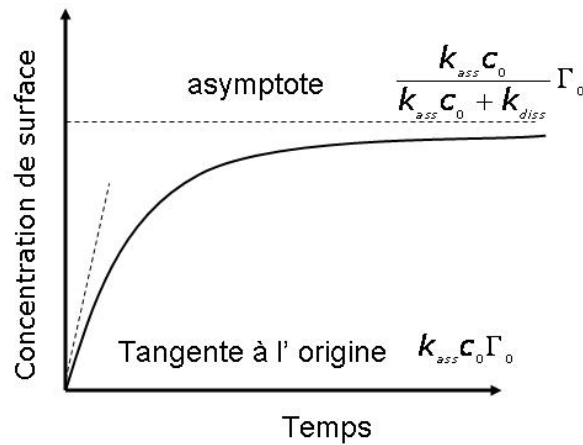


Figure IV-18 : Cinétique de la concentration en surface à partir de (équation IV-27)

Supposons maintenant qu'après un certain temps t_a , une solution tampon est injectée à la place de l'analyte. Nous aurons alors une dissociation du complexe formé sur la surface (figure IV-19) et dans ce cas l'équation de *Langmuir* sera écrite sous la forme plus simple suivante :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = -K_{diss}\Gamma \quad (IV-28)$$

et la cinétique de dissociation sera donnée par :

$$\frac{\Gamma}{\Gamma_a} = e^{-k_{diss}(t-t_a)} \quad (IV-29)$$

où Γ_a est la concentration du surface à l'instant t_a :

$$\Gamma_a = \frac{k_{ass}c_0}{k_{ass}c_0 + k_{diss}} \Gamma_0 \quad (IV-30)$$

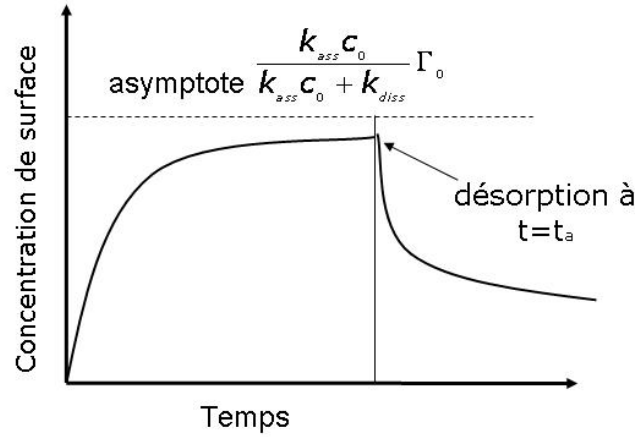


Figure IV-19 : Cinétique de l'adsorption et de désorption

IV-4-2 Couplage advection/diffusion et réactions biochimiques de type « key-lock »

Dans le paragraphe précédent, nous avons présenté les cinétiques de réaction moléculaire selon le modèle de *Langmuir*. En réalité, on peut rarement les considérer seules sans prendre en compte d'autres phénomènes physiques comme la diffusion et la convection. En effet, l'analyte est d'habitude injecté après dilution dans un liquide tampon s'écoulant dans la micro-chambre de réaction (figure IV-20).

Dans une cellule microfluidique, l'analyte est transporté vers la surface par convection et diffusion puisqu'il est injecté en flux continu. La réaction ligand-analyte et en particulier la cinétique de réaction ne dépendra pas seulement des vitesses de réaction mais aussi des processus de transport de masse mis en jeu près de la surface (figure IV-20). En particulier, lors du processus de transport, si la diffusion est très lente, la concentration de l'analyte près de la surface ne restera plus constante, et subira une diminution durant la réaction. Il y aura alors la formation d'une couche limite de concentration déjà évoquée dans ce chapitre. Dans ce cas, la cinétique globale de la réaction sera limitée par le flux de diffusion et non plus par les vitesses d'adsorption et de désorption [8]. La concentration constante C_0 du modèle de *Langmuir* est alors remplacée par une concentration variable c_{surf} (équation IV-26). Le taux de recouvrement Γ est alors calculé par la résolution de l'équation suivante :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = k_{ass} c_{surf} (\Gamma_0 - \Gamma) - K_{diss} \Gamma \quad (IV-31)$$

On voit ici apparaître le couplage entre la réaction de surface et les mécanismes de transport par l'intermédiaire du calcul de la concentration c_{surf} . La résolution du problème devient alors complexe et à notre connaissance, dans le domaine des capteurs SPR à fibre optique, même si différents modèles numériques ont été développés et comparés aux données expérimentales, aucun n'a tenu compte simultanément des équations décrivant l'interaction moléculaire et le couplage avec celles décrivant les effets de

transport (convection-diffusion).

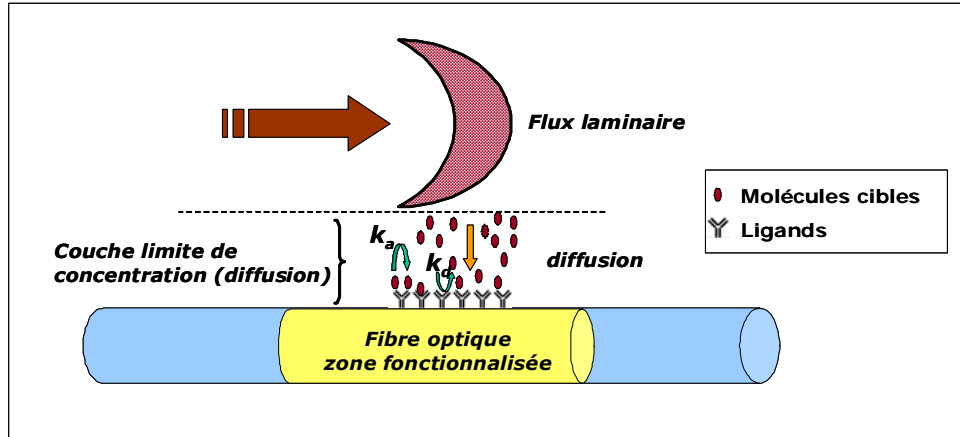


Figure IV-20 : Schéma représentant la réaction cinétique et le phénomène de transport du flux injecté par la pompe dans la cellule vers la surface de la zone sensible.

IV-4-3 Implémentation du modèle complet

Dans notre étude, nous avons ainsi pris en compte les phénomènes physiques couplés avec la réaction de surface. Mathématiquement, l'équation de transport (eq IV-19) est couplée avec l'équation cinétique de la réaction (IV-31) par l'intermédiaire de la condition limite à la surface (modification de la condition de *Neumann*).

On obtient alors un système de deux équations différentielles couplées à la surface par la loi de *Fick* :

$$\left. \begin{aligned} (1) \quad \frac{\partial c}{\partial t} + \vec{U} \cdot \nabla c &= \nabla \cdot (D \nabla c) \\ (2) \quad \frac{d\Gamma}{dt} &= k_{ass} c_{surf} (\Gamma_0 - \Gamma) - k_{diss} \Gamma \end{aligned} \right\} \frac{d\Gamma}{dt} = -D \nabla c_{surf} \quad (\text{loi de Fick}) \quad (IV-32)$$

Alors la concentration en surface sera donnée par:

$$\Gamma = \frac{D \nabla c_{surf} + k_{ass} c_{surf} \Gamma_0}{k_{ass} c_{surf} + k_{diss}} \quad (IV-33)$$

où c_{surf} est la concentration de l'analyte près de la surface.

La relation (IV-33) montre qu'il y a un certain équilibre entre la concentration de l'analyte près de la surface et le taux de formation des complexes (c.-à-d. équilibre entre le flux vers la surface et la réaction de surface). En d'autres termes si la concentration de l'analyte près de la surface diminue, il y aura un ralentissement de la formation des complexes ainsi que le début d'une dissociation des complexes déjà formés.

Nous avons alors complété notre modèle en introduisant une part de « fuite » ou de « source » au niveau de la limite correspondant à la surface réactive. Il est donc nécessaire dans les équations d'équilibre d'introduire un nouveau flux :

$$\mathbf{J} = -D \frac{\partial C}{\partial n} = \frac{d\Gamma}{dt} \quad (\text{IV-34})$$

D'autre part, pour déterminer la concentration c_{surf} des sites « occupés » ou hybridés à la surface, nous avons dû introduire le calcul d'équilibre des masses en surface, tenant compte de la diffusion en surface et de la vitesse de réaction exprimant la formation d'espèces adsorbées :

$$\frac{\partial c_{surf}}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_s \nabla c_{surf}) = \frac{d\Gamma}{dt} \quad (\text{IV-35})$$

Avec

$$\frac{d\Gamma}{dt} = k_{ass} c_{surf} (\Gamma_0 - \Gamma) - K_{diss} \Gamma \quad (\text{IV-36})$$

Enfin, nous avons fixé comme condition initiale que la concentration c_{surf} soit nulle au début du processus.

IV-4-4 Quantification de la réaction par la technique SPR

Le SPR offre la possibilité de quantifier ces réactions moléculaires en temps réel [9-11]. Il permet de détecter et mesurer des paramètres cinétiques résultants de la réaction entre les molécules.

Quand une solution contenant un analyte est mis en contact avec le biocapteur SPR, les molécules de l'analyte présentes dans la solution réagissent avec les ligands liés à la surface, ce qui produit une augmentation de l'indice de réfraction à la surface du capteur. Ainsi, le changement de concentration c_{surf} du complexe à la surface du capteur produit un changement dans la condition de résonance des plasmons de surface qui se manifeste par une variation du signal SPR (réflectivité, angle ou longueur d'onde de résonance). Ainsi d'une manière indirecte, nous pouvons suivre les variations de concentration et les cinétiques d'adhésion au voisinage de la surface [10-12].

L'enregistrement des variations du signal SPR se présente sous la forme d'un *sensorgramme*, permettant de suivre en temps réel les évolutions en indice, épaisseur, masse ou encore de la surface (fig IV-21). Un *sensorgramme* typique comporte 3 phases : (1) lors de l'injection de l'analyte, le signal augmente si l'analyte interagit avec le ligand immobilisé, et ceci tant que les événements d'association moléculaire sont prédominants sur les événements de dissociation. À l'état d'équilibre (événements d'association et de dissociation équivalents), le signal est stable. (2) Durant la phase de post-injection, le flux d'analyte est remplacé par un flux de tampon. Le signal diminue parce que le complexe se dissocie. (3) La phase de régénération (injection d'une solution tampon) permet de dissocier tout l'analyte. Le signal revient au niveau de départ et un nouveau

cycle d'injection/régénération peut être effectué [13]. Le traitement du graphe enregistré permet de quantifier la réaction moléculaire et de déterminer les constantes d'association k_{ass} et de dissociation k_{diss} . Le rapport k_{diss}/k_{ass} correspond à la constante d'affinité de l'interaction K_{aff} [13].

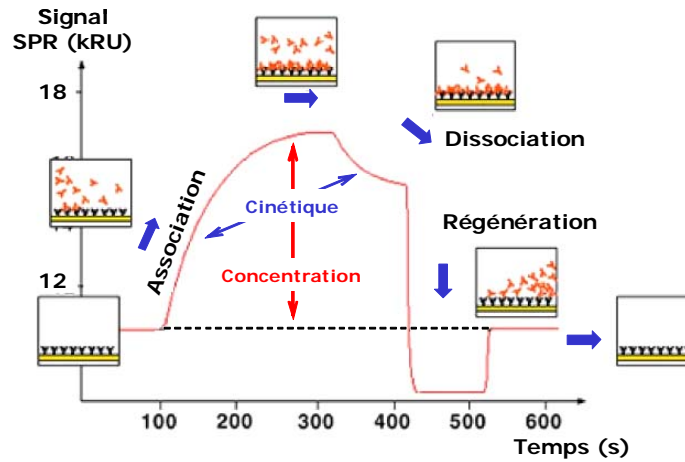


Figure IV-21 : Le sensorgramme est la variation du signal SPR en fonction du temps. Les variations du signal, exprimées en unités de résonance (RU), en fonction du temps permettent de calculer la constante d'association (k_{ass}) et de dissociation (k_{diss}) de l'interaction.

En données SPR, pour le modèle de *Langmuir*, l'équation des réactions cinétiques peut se traduire sous la forme suivante :

$$\frac{dR}{dt} = k_{ass}C_{surf}(R_{max} - R) - k_{diss}R \quad (IV-37)$$

où R , la réponse du biocapteur (en RIU), est convertie en quantité de matière présente par unité de surface, grandeur que nous avons noté Γ (taux de recouvrement surfacique).

Pour la phase de dissociation, nous aurons :

$$\frac{dR}{dt} = -k_{diss}R \quad (IV-38)$$

Il existe deux types de calculs pour déterminer les constantes k_{ass} et k_{diss} soit à l'équilibre, soit par une analyse cinétique :

- **Analyse à l'équilibre ($dR/dt=0$)**

L'équation IV-37 devient:

$$k_{diss}R_{eq} = k_{ass}C_{surf}(R_{max} - R_{eq}) \quad (IV-39)$$

Pour $K_{aff} = k_{ass}/k_{diss}$ est la constante d'affinité de l'interaction (ligand/analyte), l'équation (IV-39) sera écrite sous la forme suivante :

$$\frac{R_{eq}}{c_{surf}} = k_{aff}(R_{max} - R_{eq}) \quad (IV-40)$$

Si le processus n'est pas limité par la diffusion, alors $c_{surf} \approx c_0$, il sera donc possible de remonter soit à c_0 si l'on connaît K_{aff} du couple mesuré, soit à K_{aff} si l'on connaît c_0 . K_{aff} sera donc la pente de la droite R_{eq}/c_0 en fonction de R_{eq} .

- **Analyse à partir de la cinétique**

C'est une analyse en temps réel, en dehors de l'équilibre, l'équation (IV-37) devient

$$\frac{dR}{dt} = k_{ass}c_0R_{max} - (k_{ass}c_0 + k_{diss})R \quad (IV-41)$$

Cette relation décrivant la variation de la réponse du capteur en fonction du temps, permet, lorsque les conditions expérimentales sont remplies (écoulement), de calculer les valeurs de k_{ass} et k_{diss} .

Les logiciels *BIAevaluation* de *BIAcore* et *Clamp* de *Myszka* sont souvent utilisés pour traiter les données d'un sensorgramme. Ils permettent un ajustement global des données expérimentales par une intégration mathématique des données. Le meilleur ajustement entre les données expérimentales et théoriques, permet de trouver les valeurs k_{ass} , k_{diss} et R_{max} compatibles avec l'ensemble des données expérimentales [14]. Cette méthode mathématique est une approche numérique simplifiée mais qui ne prend pas compte du couplage entre le phénomène de transport et la réaction en surface (hypothèse que $c_{surf} = c_0$) [15,16].

IV-5 Résultats numériques – Caractérisation du biocapteur

Cette dernière partie de la thèse consiste à tester notre modèle en le comparant avec le capteur équivalent fonctionnalisé par une couche réceptrice biologique sur la surface d'or. Comme nous l'avons vu précédemment, la première étape consiste à immobiliser la molécule cible sur la surface active de la fibre optique. Pour ce faire, un élément biologique (ligand) doit être préalablement fixé sur la surface métallique. Une étude bibliographique montre qu'il n'est pas si facile de réaliser cette première opération, et que généralement le ligand n'est pas directement fixé sur une surface d'or. Il apparaît en effet nécessaire la présence de groupes chimiques appropriés pour préparer l'adhésion du ligand. De plus, l'immobilisation directe des ligands sur une surface d'or pourrait les dénaturer, ce qui aurait un impact négatif sur les interactions moléculaires [17]. Il est donc nécessaire de passer par une étape importante de chimie de surface, s'accompagnant généralement de 4 ou 5 synthèses différentes.

Plusieurs approches sont proposées dans la littérature. Actuellement, les monocouches auto-assemblées (SAMs) sont les plus utilisées pour fonctionnaliser une surface d'or, c'est-à-dire déposer une couche biologique ou autre sur la surface d'or. Cette approche consiste à fixer ces éléments sur la surface d'or via des chaînes thiolisées (i.e. alcanethiols), servant alors d'encrage à la fixation d'un ester « activé » pour enfin fixer le ligand qui peut être un anticorps, un brin d'ADN ou une protéine. La monocouche biologique ainsi réalisée présente généralement une épaisseur comprise entre 1 et 15nm pour un indice de réfraction compris entre 1,45 et 1,50 [18].

Pour atteindre notre but et valider notre modèle, nous avons utilisé les paramètres cinétiques réels trouvés dans la littérature. Enfin, nous avons ajusté les simulations obtenues avec notre configuration fibre optique avec des résultats expérimentaux enregistrés par un système *BIAcore*.

Dans un premier temps, nous allons définir la manière de prendre en compte la formation de la couche biologique (constante diélectrique et épaisseur) dans le calcul de la réponse du capteur.

IV-5-1 Couplage adsorption chimique – signal SPR

Dans le but d'étudier la réponse de notre capteur en fonction de la couche biologique formée par l'adhésion des molécules cibles sur les ligands, nous avons préalablement modélisé cette réponse en fonction de la constante diélectrique et de l'épaisseur de la couche biologique à l'aide du programme décrit dans le chapitre II. En particulier nous avons modélisé un système multicouches composé du cœur de la fibre, du métal, de notre couche biologique et enfin du fluide porteur solvant.

La figure IV-22 présente l'évolution de la réponse spectrale du capteur à fibre optique en fonction de l'épaisseur de la couche biologique déposée sur la zone sensible. Ces simulations sont obtenues avec une couche d'or de 50nm, et nous avons choisi un indice de $n_s=1,3335$ pour caractériser le liquide porteur de molécules cibles, car la plupart des études biologiques ont lieu dans des milieux aqueux. Un décalage linéaire du spectre vers les grandes valeurs de longueurs d'onde est observé avec l'augmentation de l'épaisseur de la couche biologique. Nous remarquons que la longueur d'onde de résonance se déplace significativement pour une faible variation de l'épaisseur de la couche déposée, indiquant une bonne sensibilité du capteur par rapport aux réactions de surface. Cette sensibilité sera d'autant plus grande que les molécules auront une masse molaire importante.

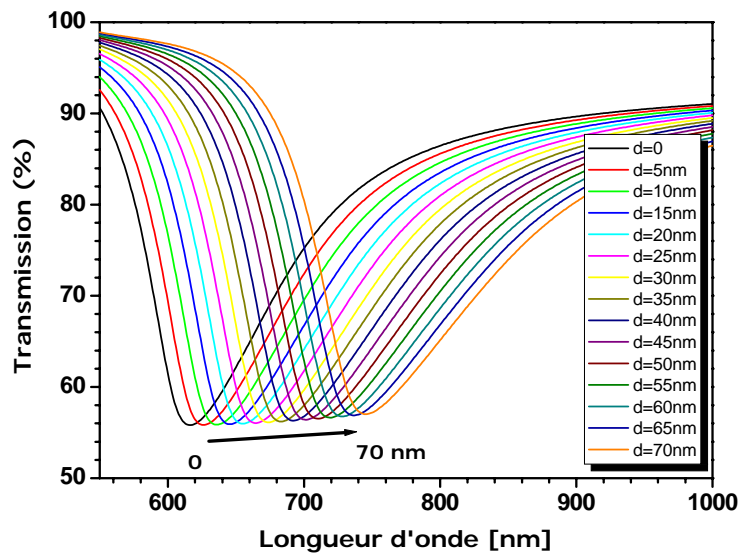


Figure IV-22 : Réponse spectrale (simulation) du capteur à fibre optique en fonction de l'épaisseur de la couche biologique (indice de réfraction du solvant $n_s = 1,3335$, épaisseur couche d'or 50nm, indice de réfraction de la couche biologique $n_{bio}=1,45$).

La figure IV-23 présente quant à elle, pour une longueur d'onde fixe de 616 nm, l'évolution de la transmission de la lumière par la fibre en fonction de l'épaisseur de la couche biologique. On observe une saturation du signal SPR quand l'épaisseur de la couche déposée dépasse 60 nm. En raison de cela, nous avons choisi de rester dans la gamme linéaire de la courbe dans le cadre de notre étude.

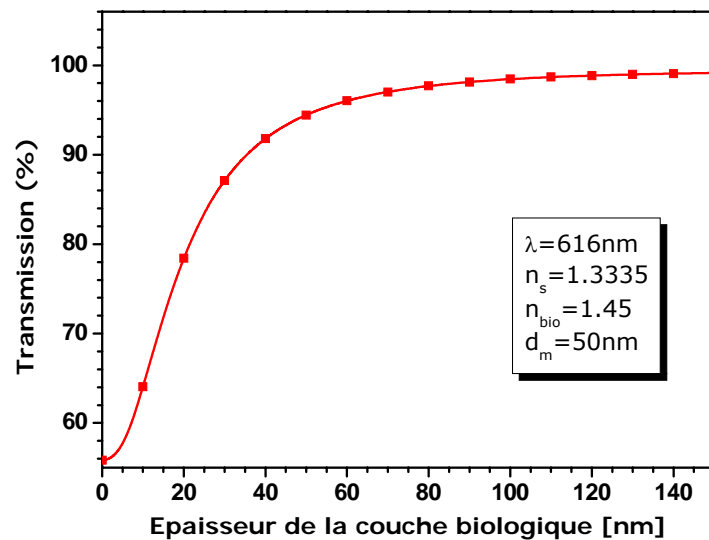


Figure IV-23 : Variation de la puissance transmise à $\lambda = 616 \text{ nm}$, par la fibre optique en fonction de l'épaisseur de la couche biologique ($n_s = 1,335$, $n_{bio} = 1,45$).

Nous avons envisagé deux façons pour prendre en compte le taux de recouvrement Γ durant la formation de la couche : i) soit en fixant l'épaisseur totale d_T de la couche des couples ligands-analytes formés avec un indice de réfraction variable ϵ_m , ii) soit en fixant l'indice ϵ_{bio} mais avec une épaisseur variable d_{bio} .

Dans le premier cas, nous calculons un indice moyen de la couche biologique (n_m) entre le milieu porteur (solvant) et le complexe formé par le couple (analyte, ligand) par l'équation suivante:

$$n_m(t) = \Gamma(t) \times \sqrt{\varepsilon_{bio}} + [1 - \Gamma(t)] \times \sqrt{\varepsilon_s} \quad (IV-42)$$

où ε_{bio} et ε_s sont les constantes diélectriques intrinsèques de la couche biologique formée et du solvant, respectivement.

Dans le deuxième cas, nous fixons l'indice de réfraction pour une épaisseur variable d_{bio} qui est calculée par l'équation suivante:

$$d_{bio} = \Gamma(t) \times d_T \quad (IV-43)$$

avec d_T qui représente la valeur maximale de l'épaisseur de la couche.

La figure IV-24 représente la variation de la longueur d'onde de résonance en fonction du taux de recouvrement Γ . Nous pouvons remarquer que la différence entre le calcul de la variation de la longueur d'onde par n_m et le calcul de la variation par d_{bio} est insignifiante pour les mêmes valeurs du taux de recouvrement. En d'autres termes, la différence entre ces deux calculs de variation réside dans les méthodes de calcul. Les deux méthodes mènent au même résultat avec des valeurs de taux de recouvrement communes. Le résultat illustré dans cette figure signifie que l'épaisseur de la couche déposée peut être considérée comme une variable pour étudier la cinétique d'adsorption des ligands sous condition que l'indice de réfraction soit égal, à priori, à la plus grande valeur que l'indice pourrait avoir dans le cas où l'épaisseur biologique, d_{bio} , atteint sa valeur maximale, d_T , c'est-à-dire : $d_{bio} = d_T$.

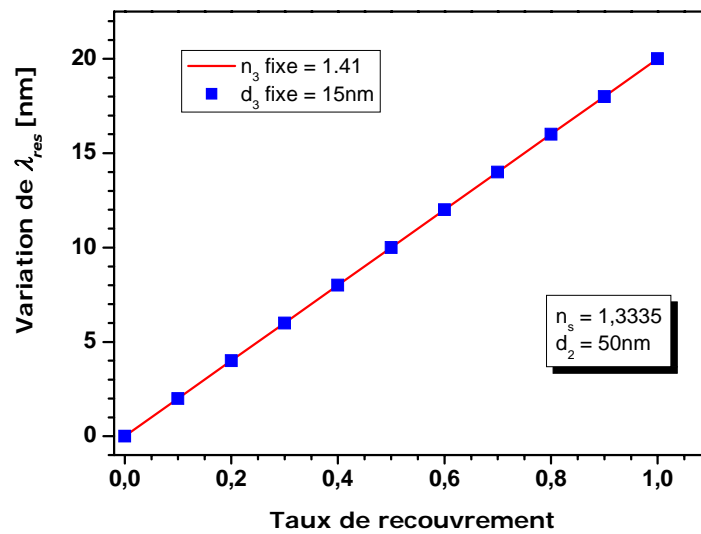


Figure IV-24 : Variation de la longueur d'onde de résonance en fonction de taux de recouvrement de la surface. (■) épaisseur de la couche organique fixée à 15nm et un indice effectif qui varie entre (1,335-1,41). (●) indice de réfraction de la couche organique fixé à 1,41 et une épaisseur qui varie entre (0-15nm)

Dans cette section, notre étude s'est limitée à présenter l'effet de l'épaisseur de la couche biologique sur la réponse du capteur SPR à fibre optique. Mais il reste à étudier comment la cinétique de réaction entre ces éléments biologiques modifie l'indice de la couche déposée, et induit une variation de la réponse optique en temps réel.

IV-5-2 Etude cinétique de la réaction PKI-PrKX

La prise en compte de l'interaction ligand-analyte (formation de la couche organique) dans notre modèle numérique nécessite d'introduire les valeurs des paramètres cinétiques (k_{ass} et k_{diss}) de la réaction moléculaire pour décrire la condition à la limite de la surface de la zone sensible. Pour cela, nous avons utilisé les résultats expérimentaux obtenus par B. Zimmermann et al [20] sur un exemple réel. La figure IV-25 présente la réponse de l'interaction de la protéine notée PKI par l'auteur pour « *protein kinase inhibiteur* » et qui joue le rôle du ligand immobilisé sur la surface d'un bio-capteur BIAcore, et d'une protéine notée PrKX pour « *human X chromosome protein kinase* » comme analyte. Les valeurs de k_{ass} et k_{diss} obtenues après un traitement du signal par le logiciel Bia-évaluation sont respectivement $3,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $5,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

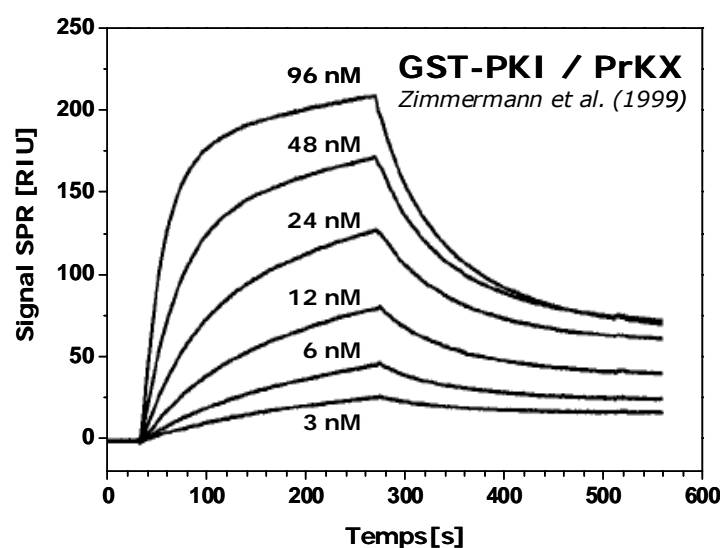


Figure IV-25 : Exemple de la réponse SPR pour l'interaction moléculaire entre la protéine *heatstable kinase inhibiteur* (PKI - Ligand) et la protéine Kinase X (PrKX-analyte) d'après [20].

Nous avons trouvé par cet exemple le moyen de comparer notre modèle numérique d'une part et d'étudier numériquement la réponse du capteur SPR à fibre optique en présence de cette réaction d'autre part. La détection des molécules biologiques se faisant dans un milieu aqueux, nous avons choisi l'eau ($n_s=1,3335$) comme milieu porteur (solvant).

L'indice de la couche biologique varie en fonction du taux de recouvrement de la surface, suivant l'équation IV-42.

Sur la figure IV-26 nous présentons la variation de l'indice (n_m) en fonction du temps pour différentes valeurs de concentration en analyte. Pour effectuer ce calcul nous avons utilisé les paramètres cinétiques utilisés lors de l'acquisition des courbes de la figure IV-25 [20] avec une vitesse moyenne d'écoulement $U = 6\text{mm/s}$ et un coefficient de diffusion de protéines de $D = 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Nous remarquons que la variation de l'indice de la couche biologique est proportionnelle à la concentration de l'analyte dans la solution injectée. Elle varie en fonction du temps suivant le taux de recouvrement de la surface. Ce taux de recouvrement est gouverné par l'équation de couplage (équation IV-36) et surtout par les deux constantes de vitesse d'association (k_{ass}) et de dissociation (k_{diss}) qui pilotent l'interaction ligand-analyte.

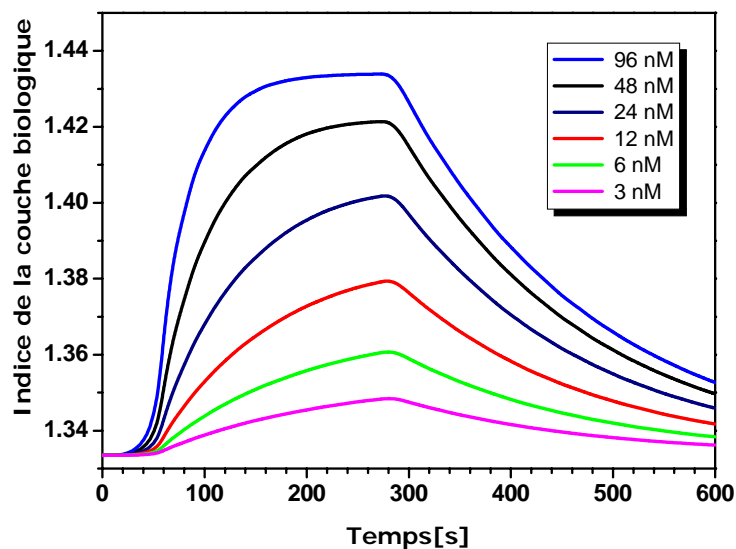


Figure IV-26 : Variation de l'indice de la couche biologique en fonction du temps pour différentes valeurs de concentration de l'analyte pendant un temps de 600s : courbes obtenues avec $\varepsilon_{bio}=1,45$; $\varepsilon_s = 1,3335$; $U=6\text{mm/s}$; $D = 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$; $k_{ass}= 3,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $k_{diss}=5,8 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.

Pour des temps suffisamment longs, l'état stationnaire s'établit représentant l'équilibre entre les deux processus d'association et de dissociation (voir figure IV-27). Dans ce cas, l'indice de réfraction de la couche biologique formée a une valeur constante qui correspond au recouvrement maximal de la surface (dans ces conditions) et qui dépend de la valeur de la concentration de l'analyte injectée.

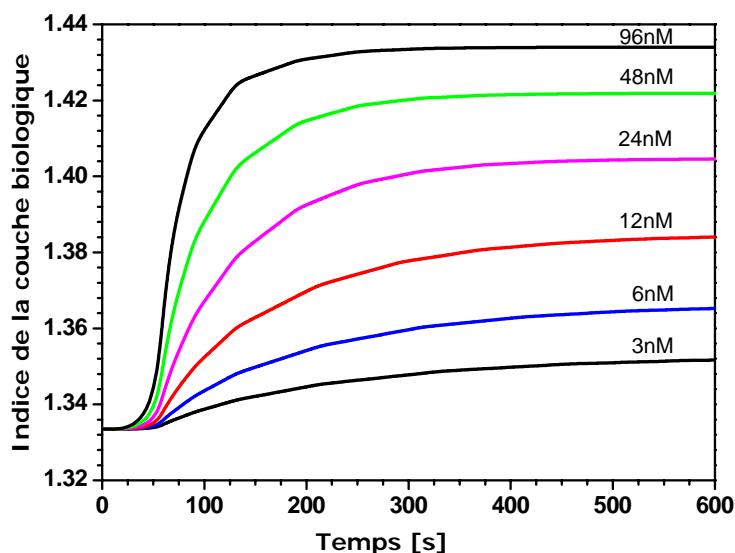


Figure IV-27 : Simulations de la variation de l'indice de la couche biologique en fonction du temps pour différentes valeurs de la concentration de l'analyte : courbes obtenues avec $\varepsilon_{bio}=1,45$; $\varepsilon_s = 1,3335$; $U=6\text{mm/s}$; $D\approx 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $k_{ass}= 3,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $k_{diss} = 5,8 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.

A titre d'exemple, la figure IV-28 présente l'évolution de l'indice de la couche pour un changement de concentration de l'analyte ($PrKX$) compris entre 0 et 1000 nM. Notons que ces valeurs sont extraites à l'équilibre. Nous remarquons que pour les faibles concentrations, l'indice de réfraction augmente linéairement avec la concentration tandis que pour les concentrations très élevées, l'indice a une valeur constante dès que la concentration dépasse 200nM. En d'autres termes, au-delà de 200nM, nous observons une faible variation de l'indice traduisant une saturation des sites actifs produits (ligands) et par suite une faible variation du taux de recouvrement ΔF de la surface. Ceci impose donc de définir la gamme de fonctionnement pour chaque expérience afin d'éviter la saturation du signal de notre capteur.

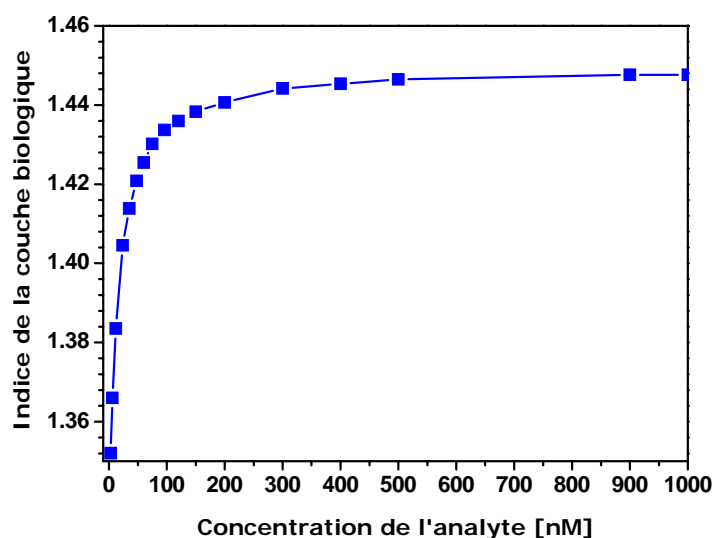


Figure IV-28 : Indice de réfraction de la couche biologique en fonction de la concentration de l'analyte : valeurs obtenues à l'équilibre.

La variation de l'indice de la couche biologique va directement influencer sur la réponse du capteur. Elle se traduira logiquement par une variation de la longueur d'onde de résonance. Ainsi, nous pourrions donc à partir de la réponse du capteur remonter à la concentration de l'analyte injecté, ainsi qu'à la cinétique des interactions moléculaires (ligand/analyte).

La figure IV-29 présente la réponse cinétique du capteur SPR à fibre optique pour différentes concentrations de l'analyte (*PrKX*). Ces simulations sont obtenues pour un temps de 600s avec les paramètres suivants : $U = 6\text{mm/s}$, $D = 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (coefficient de diffusion des protéines), et $d_{\text{métal}} = 50\text{nm}$. Les valeurs de k_{ass} et k_{diss} sont fixées comme précédemment, pour la couche biologique nous avons fixé une épaisseur maximale $d_T = 20 \text{ nm}$ pour une constante diélectrique $\varepsilon_{\text{bio}} = (1,45)^2$. Nous avons considéré qu'au temps initial $t=0$, la concentration de l'analyte est nulle.

Les courbes obtenues montrent l'évolution de la longueur d'onde de résonance en fonction du temps. Cette évolution est liée à l'indice de la couche biologique qui augmente en fonction du taux de recouvrement de la surface.

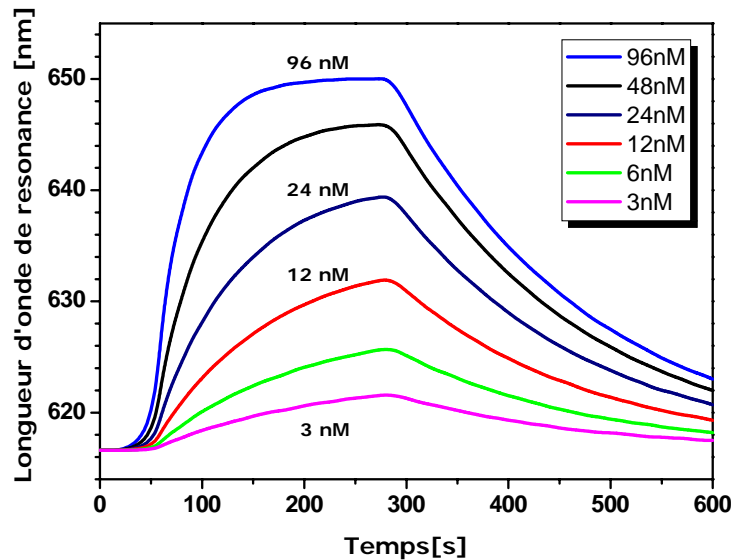


Figure IV-29 : Réponse cinétique du capteur SPR pour différentes valeurs de concentration de l'analyte pendant un temps de 600s : courbes présentant les processus d'adsorption et de désorption obtenues avec $d_{\text{bio}}=10\text{nm}$, $\varepsilon_{\text{bio}}=1,45$; $\varepsilon_s = 1,3335$; $U=6\text{mm/s}$; $D=10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $k_{\text{ass}} = 3,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $k_{\text{diss}} = 5,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Après un temps d'injection de l'analyte égale à 280s et selon le modèle choisi, une autre solution (tampon) est injectée pour laver la zone sensible permettant ainsi de réutiliser les ligands en dissociant les molécules de l'analyte greffés. Dans ce cas, la cinétique de réaction ne dépend que de k_{diss} et de la valeur de la concentration à l'état final. L'équation du couplage prend alors la forme suivante :

$$-D\nabla^2 c + c \cdot \mathbf{u} = -k_{\text{diss}} \Gamma \quad (\text{IV-44})$$

Pour prendre en considération cette étape dans les simulations numériques, nous avons effectué des simulations pendant une période de 320 secondes, à partir de l'état final de l'injection, durant laquelle la concentration de l'analyte est nulle. Une décroissance de la longueur d'onde de l'état stationnaire est montrée par la figure IV-29. Cette décroissance traduit le processus de dissociation du complexe formé par l'interaction (analyte/ligand).

Nous avons reporté sur la figure IV-30 la position en longueur d'onde du pic de résonance des plasmons en fonction de la concentration de l'analyte (PrKX). Nous remarquons le comportement non linéaire de la réponse pour des concentrations supérieures à 20-30 nM. De cette courbe nous pouvons néanmoins extraire une sensibilité de notre capteur d'environ 0,6 nM/nm :

$$S_{capt} = \frac{\Delta C}{\Delta \lambda_{res}} \text{ (nM / nm)} \quad (\text{IV-45})$$

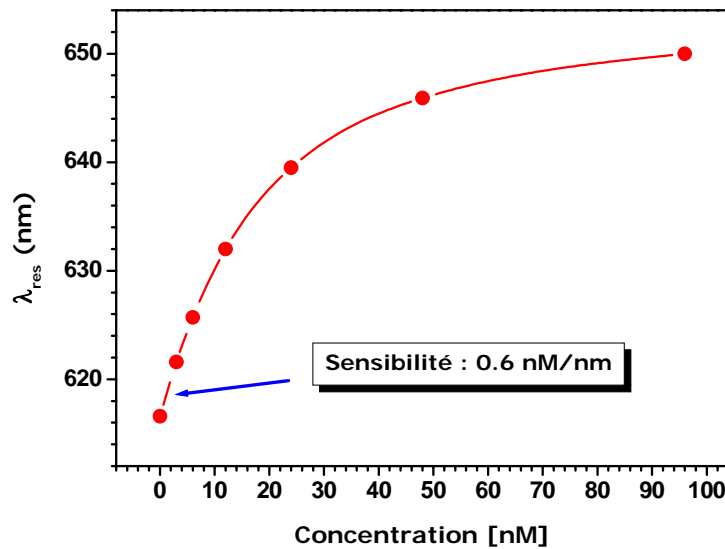


Figure IV-30 : Evolution de la position du pic de résonance des plasmons en fonction de la concentration de l'analyte (mesure réalisée après 250 secondes).

Dans le même ordre d'idée, il est possible d'évaluer la sensibilité massique du capteur. Pour cela, nous avons calculé la masse équivalente pour une épaisseur de couche biologique de 20 nm. Si nous considérons une fibre de diamètre de cœur 300 μm, traitée sur 20 mm de longueur, et en tenant compte d'une masse volumique de la couche de 1,2 g/cm³, Nous obtenons une masse pour une couche complète de 450 ng. Nous avons tracé sur la figure IV-31 la masse déposée en fonction de la longueur d'onde de résonance observée. Nous en déduisons la sensibilité massique de notre capteur d'environ 12 ng/nm :

$$S_{massique} = \frac{\Delta M}{\Delta \lambda_{res}} \text{ (ng / nm)} = 12 \text{ ng / nm} \quad (\text{IV-46})$$

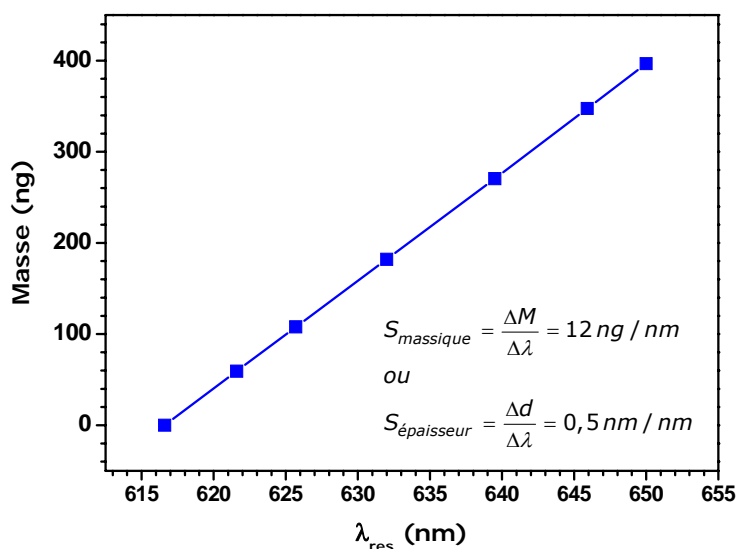


Figure IV-31 : Masse déposée en fonction de la position du pic de résonance des plasmons.

- Influence de l'épaisseur de la couche biologique

La figure (IV-32) Présente l'influence de l'épaisseur de la couche biologique sur la réponse cinétique du capteur SPR à fibre optique. Plus l'épaisseur est importante, plus la variation du signal SPR est importante. Cela fait néanmoins apparaître que la sensibilité du capteur est fortement liée à la taille des molécules cibles. En effet des épaisseurs de 5nm pour une monocouche d'analyte immobilisé correspondent à des macromolécules de plusieurs Kilodaltons (KD). Notons que cette limitation connue pour la détection SPR en général n'est pas un réel problème en biologie car les cibles recherchées sont souvent des macromolécules de masses molaires importantes.

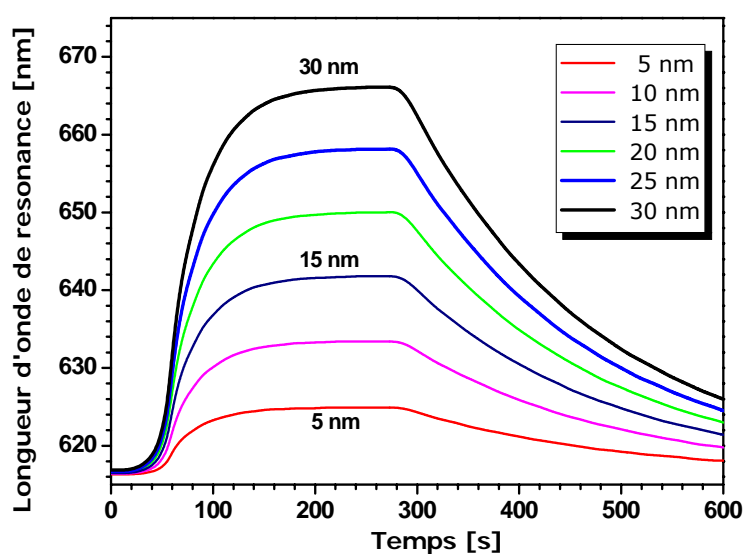


Figure IV-32 : Influence de l'épaisseur de la couche biologique sur la réponse cinétique d'un capteur SPR à fibre optique.

Sur la base de ces résultats de simulation, il nous semble que notre modèle numérique peut être utilisé pour interpréter les résultats expérimentaux en temps réel obtenus par un capteur microfluidique SPR à fibre optique. Il apparaît important de prendre en compte la convection, la diffusion et la réaction des espèces. A titre d'exemple, la figure IV-33 illustre la réponse cinétique du capteur pour quatre interactions moléculaires différentes : (a) GST-PKI/PKA- C_{α} [20], (b) IgG/protein A [21], (c) GST-PKI/PrKX et (d) GST-PrKX/RI $_{\alpha}$ [20], dont les valeurs de couple k_{ass} et k_{diss} de chaque interaction sont respectivement ($1,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $7,6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), ($2,42 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $3,52 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) et ($3,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $5,8 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Notons que nous avons fixé la concentration de l'analyte injecté à 25 nM, la vitesse moyenne à 6 mm/s et la constante de diffusion des protéines à $10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

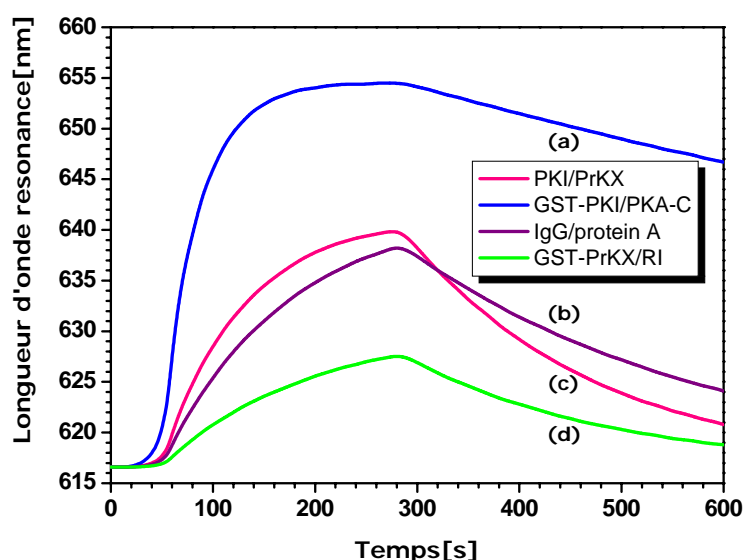


Figure IV-33 : Simulations de la réponse cinétique d'un capteur SPR à fibre optique pour 4 couples différents (k_{ass} et k_{diss}) : (a) $k_{ass}=1,5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $k_{diss}=7,6 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; (b) $k_{ass}=2,42 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $k_{diss}=3,52 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; (c) $k_{ass}=3,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $k_{diss}=5,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et (d) $k_{ass}=1,1 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $k_{diss}=5,4 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. La concentration de l'analyte $C_0=25\text{nM}$, la vitesse moyenne d'écoulement $U=6\text{mm/s}$ et la coefficient de diffusion $D=10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $d_{bio}=20\text{nm}$, $\varepsilon_{bio}=1,45$; $\varepsilon_s=1,3335$.

Ces exemples de simulation montrent comment le capteur SPR à fibre optique permet de mesurer différentes interactions moléculaires ayant des cinétiques différentes et des constantes d'affinité différentes. Notons que selon les conditions expérimentales, des informations sur les paramètres cinétiques de réactions moléculaires seront obtenues lorsque la vitesse de réaction n'est pas limitée par le processus de transport (écoulement rapide), la concentration de l'analyte à proximité de la surface restant constante (figure IV-34(a)). Par conséquent les valeurs de k_{ass} et k_{diss} pourront être obtenues par les simulations numériques avec une valeur toujours fixe de la concentration $C_{surf}=C_0$.

Par contre, si la vitesse de réaction est gouvernée par les phénomènes de transport de l'analyte vers la surface (indépendant des paramètres cinétiques de la réaction), dans ces

conditions, dites de « transport total de masse », la cinétique est proportionnelle à la concentration de l'analyte injecté C_0 . Ceci signifie que chacune des molécules d'analyte arrivant à la surface est captée par le ligand, et la concentration de l'analyte près de la surface (C_{surf}) reste toujours nulle (figure IV-34(b)). L'enregistrement de la réponse du capteur nous permet d'obtenir des informations sur la concentration active de l'analyte, alors que la vitesse de réaction reste constante et ne dépend que de la vitesse du liquide injecté [12,22-24]. Un bon compromis entre le processus de transport et la cinétique de réaction permet alors d'obtenir soit la concentration, soit la constante d'affinité ligand-analyte à partir des données expérimentales enregistrées.

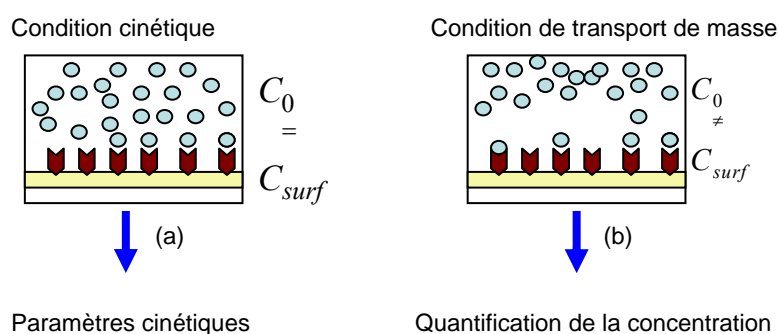


Figure IV-34 : Conditions expérimentales : (a) conditions cinétiques, (b) processus limité par le transport de masse.

IV-5-3 Etudes paramétriques

Pour terminer, nous avons voulu déterminer les paramètres géométriques optimums de notre capteur pour ce type d'application. Nous avons alors réalisé une petite étude paramétrique numérique portant sur l'influence de l'épaisseur de la couche métallique, sur la longueur sensible et le diamètre du cœur de la fibre. Notons que dans ces simulations, nous avons fixé les valeurs de k_a et k_d à $3,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $5,8 \times 10^{-3}\text{s}^{-1}$ respectivement, la concentration de l'analyte à 96 nM, le coefficient de diffusion D à $10^{-10}\text{m}^2/\text{s}$, $\varepsilon_{bio}=1,45$ et $\varepsilon_s= 1,3335$.

- Influence de l'épaisseur de la couche métallique

Comme nous l'avons déjà montré au chapitre III, l'épaisseur de la couche métallique a une influence très importante sur la réponse du capteur SPR. La figure IV-35 montre que la réponse cinétique du capteur SPR à fibre optique est décalée vers les grandes valeurs de longueurs d'onde avec l'augmentation de l'épaisseur de la couche métallique. Nous remarquons que cette épaisseur n'a pas d'effet sur les processus cinétiques de la réaction. Rappelons que pour une épaisseur supérieure à 60 nm, le capteur SPR à fibre optique perd en sensibilité.

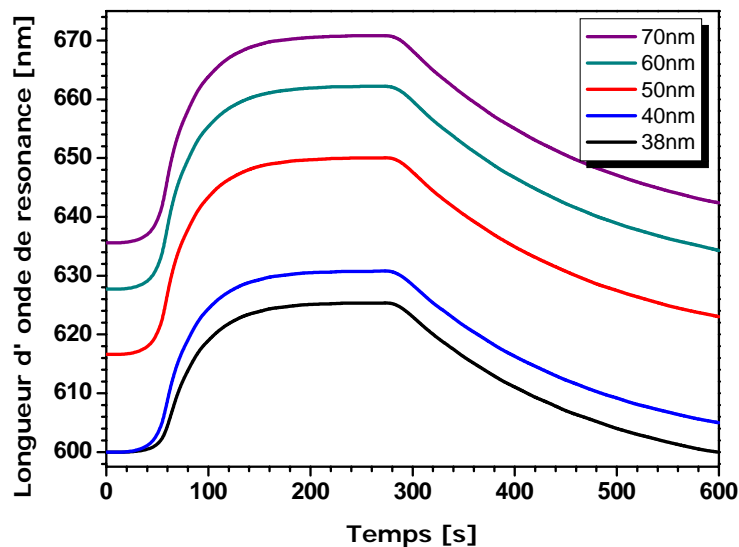


Figure IV-35 : Influence de l'épaisseur de la couche métallique d'or sur la réponse cinétique du capteur SPR à fibre optique (couche biologique d'épaisseur 20 nm)

- Influence du diamètre du cœur et de la longueur sensible

La figure IV-36 illustre que le changement du diamètre du cœur ne modifie que légèrement la réponse cinétique d'un capteur SPR à fibre optique. Ce résultat était attendu car comme nous l'avons déjà montré au chapitre III, il n'y a pas de grand décalage de la longueur d'onde de résonance avec l'augmentation du diamètre du cœur de la fibre, ni en fonction de la longueur sensible (courbes non présentées ici).

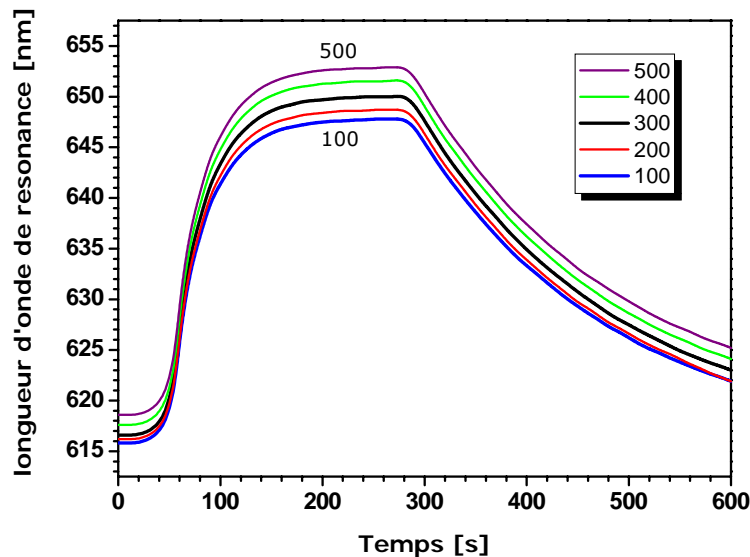


Figure IV-36 : Influence du diamètre du cœur de la fibre optique sur la réponse SPR.

IV-6 conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la réponse d'un capteur SPR à fibre optique lorsque ce dernier se trouve en présence d'un analyte soumis à un écoulement laminaire. Cet

écoulement a été réalisé à l'aide d'une cellule microfluidique dans laquelle se trouve la fibre capteur réalisée et étudiée au chapitre III. Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité et la sensibilité de ce capteur dans une configuration de fonctionnement réelle et d'explorer de nouvelles voies telles que son utilisation pour des analyses biologiques.

Dans un premier temps, nous avons rappelé l'importance de la microfluidique dans le développement des biopuces. Nous avons mis l'accent sur son rôle dans le transport des molécules cibles, pour la bio-reconnaissance et pour l'étude des constantes d'affinité de couples biochimiques. Suite à cela, la cellule microfluidique mise au point pour cette étude a été présentée, ainsi que les premiers résultats expérimentaux mesurés en temps réel sur des solutions eau/glycérol d'indice optique voisin de 1,3820.

Ces premières expérimentations ont permis de vérifier le bon fonctionnement de notre système, en particulier de s'assurer de la réponse optique du capteur en fonction des vitesses d'écoulement de l'analyte dans la cellule microfluidique. Ces résultats nous ont conduits à définir et évaluer les phénomènes physiques de transport de masse (diffusion et convection) sur la réponse SPR. Ces premiers résultats expérimentaux ont été modélisés, en couplant directement les calculs de réflectivité et de transmission optique développés au chapitre II avec la modélisation de l'écoulement laminaire et des phénomènes d'advection/diffusion. Nous avons alors introduit les équations de la mécanique de fluide et du transport de masse par advection/diffusion, équations aux dérivées partielles à la base de notre modélisation par éléments finis. Nous avons ainsi obtenus les réponses numériques de capteurs SPR en fonction du temps que nous avons alors comparées aux données expérimentales. Cette comparaison a mis en évidence l'adéquation entre données numériques et expérimentales.

Forts des bons résultats obtenus pour des solutions d'indice de réfraction différents, nous avons alors tenté d'évaluer la capacité de ce capteur SPR à fibre optique pour des études de bioreconnaissance et de mesures d'affinité moléculaire entre un analyte et des ligands déposés préalablement sur la couche sensible du capteur. Pour cela, nous avons commencé par décrire les différents types de réactions possibles entre l'analyte et le ligand greffé sur la couche sensible. Nous avons présenté les équations cinétiques de la réaction, dite hétérogène. En particulier, nous nous sommes basés sur le modèle de *Langmuir* pour décrire les réactions cinétiques en surface du capteur que nous avons couplées avec les mécanismes de transport de masse. La formation de la couche biologique (couplage ligand/analyte) dans le calcul de la réponse optique a été réalisée en tenant compte du taux de recouvrement Γ déduit du modèle de *Langmuir* en fonction du temps. La couche biologique est alors modélisée par son indice de réfraction ou son épaisseur en fonction de Γ . Ces résultats nous ont permis de montrer que l'épaisseur de la couche biologique peut être un paramètre pertinent pour l'étude de la réponse transitoire d'un capteur SPR.

Privés de nos propres résultats expérimentaux sur des molécules biologiques, nous nous sommes appuyés sur les travaux de B. Zimmermann et al. (1999), pour valider notre modélisation et caractériser notre capteur. Pour un modèle type interaction moléculaire

protéine PKI– protéine PrKX, nous avons pu déterminer une sensibilité massique et de concentration d'environ 12 ng/nm et 0.6 nM/nm. Notons que ces résultats sont valables pour des molécules de taille importante conduisant à une couche biologique en surface de 20 nm d'épaisseur. En effet, la réponse SPR est fortement dépendante de la taille et la masse molaire des molécules adsorbées. Enfin, nous avons présenté une étude paramétrique sur les principales caractéristiques physiques du capteur (diamètre du cœur de la fibre, longueur sensible et épaisseur de la couche métallique) dans le but d'en optimiser l'efficacité.

En conclusion, il apparaît à travers ce travail qu'un capteur SPR en configuration fibre optique, associé à une cellule microfluidique, est tout à fait envisageable pour effectuer des analyses biologiques, qu'elles soient quantitatives et qualitatives.

Bibliographie

- [1] J. Berthier and P. Silberzan, *Microfluidics for biotechnology* (2006) édité par Artech House, microelectromechanical systems (MEMS) series.
- [2] N. Minc, J.L. Viovy, *Microfluidique et applications biologiques : enjeux et tendances*, comptes rendus physique 5 (2004) 565-575.
- [3] S. C. Huang, G. B. Lee, F. C. Chien, S. J. Chen, W. J. Chen and M. C. Yang, A microfluidic system with integrated molecular imprinting polymer films for surface plasmon resonance detection, *J. Micromech. Microeng.* 16 (2006) 1251–1257.
- [4] Y. Wang, B. Vaidaya, H. D. Farquar, W. Stryjewski, R. P. Hammer, R. L. McCarley, and S. A. Soper, Microarrays assembled in microfluidic chips fabricated from poly(methyl methacrylate) for the detection of low-abundant DNA mutations. *Anal.chem* 73 (2003) 1130-1140.
- [5] E. Guyon, J.-P. Hulin, L. Petit, P.-G. de Gennes, *Hydrodynamique physique*, 2001, EDP Sciences Editions
- [6] B. William, J. Zimmerman, *Process Modelling and simulation with finite element methods: Series on stability, vibration and control of systems*, series A volume 15 (2005), edited by World Scientific.
- [7] P. Y. Tsoi and M. Yang, Kinetic study of various binding modes between human DNA polymerase β and different DNA substrates by surface-plasmon-resonance biosensor, *Biochem. J.* 361 (2002) 317-325.
- [8] R. Marie, H. Jensenius, J. Thaysen, C. B. Christensen, A. Boisen, Adsorption kinetics and mechanical properties of thiol-modified DNA-oligos on gold investigated by microcantilever sensors, *ultramicroscopy* 91 (2002) 29-36.
- [9] R. W. Glasser, Antigen-Antibody and mass transport by convection and diffusion to a surface, A two-dimensional computer model of binding and dissociation kinetics, *analytical biochemistry* 213 (1993) 152-161.
- [10] E. Maillart, développement d'un système optique d'imagerie en résonance de plasmons de surface pour l'analyse simultanée de multiples interactions biomoléculaires en temps réel. Thèse de doctorat de l'Université Paris XI (2004).
- [11] J. Homola, present and future of surface plasmon resonance biosensors, review *Analytical Bioanalytical Chemistry* 377 (2003) 528-539.

- [12] T. M. Davis et W. D. Wilson, determination of the refractive index increments of small molecules for correction of surface plasmon resonance data analytical biochemistry 284 (2000) 348-353.
- [13] M. Lahmani, P. Boisseau, P. Houdy : Les nanosciences, Tome 3 : Nanobiotechnologies et nanobiologie, chapitre9, Editions Belin 2007.
- [14] P. Edwards, R. Leatherbarrow, determination of association rate constants by an optical biosensors using initial rate analysis, Analytical biochemistry 246 (1997) 1-6.
- [15] D. G. Myszka, T. A. Norton, CLAMP: a biosensor kinetic data analysis program. Trends Biochem. Sci. (1998) 149-50.
- [16] R. Karlsson, P. S. Katsamba, H. Nordin, E. Pol , D. G. Myszka, Analyzing a kinetic titration series using affinity biosensors, Analytical Biochemistry 349 (2006) 136-147.
- [17] T. Gervais, K. F. Tensen, Mass transport and surface reactions in microfluidic systems, Chemical engineering science 61 (2006) 1102-1121.
- [18] F. S. Ligler and C.A. Rowe, Optical biosensors: present and future, Chapitre 7 pp.236-237, 2002 Elsevier.
- [19] B. D. Gupta, A. K. Sharma, Sensitivity evaluation of a multi-layered surface Plasmon resonance-based fiber optic sensor: a theoretical study, sensors and actuators B 107 (2007) 40-46.
- [20] B. Zimmermann, J. A. Chiorinis, Y. Ma et R. M. Kotin: PrKX Is a novel catalytic subunit of the CAMP-dependent protein Kinase regulated by the regulatory subunit type I, The journal of biological chemistry 274 (1999) 5370-5378.
- [21] B. Catimel, M. Nerrie, F. T. Lee, A. M. Scott, G. Ritter, S. Welt, L. J. Old, A. W. Burgess, E. C. Nice, Kinetic analysis of the interaction between the monoclonal antibody A33 and its colonic epithelial antigen by the use of an optical biosensor: A comparaison of immobilisation strategies, journal of chromatography A, 776 (1997) 15-30.
- [22] L. L. Christensen, Theoretical analysis of protein concentration determination using biosensor technology under conditions of partial mass transport limitation; Analytical Biochemistry, 249 (1997) 153-164
- [23] R. Karlsson, A. Falt, Experimental design for kinetic analysis of protein-protein interactions with surface plasmon resonance biosensors, J. Immunol. Methods 200 (1997) 121-133.
- [24] R. Karlsson, P. S. Katsamba, H. Nordin, E. Pol , D. G. Myszka, Analyzing a kinetic titration series using affinity biosensors, Analytical Biochemistry 349 (2006) 136-147.

CONCLUSION

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION

La conception d'un capteur SPR en configuration fibre optique est bien maîtrisée mais ses faibles performances (limite de détection et sensibilité, en particulier) restent les obstacles principaux pour une utilisation importante dans l'industrie, et ceci malgré les besoins importants pour ce type de capteur. Pour rompre avec cet état de fait, il est indispensable de mener une étude expérimentale conjointement avec des simulations numériques afin de déterminer les paramètres clés pouvant permettre d'améliorer significativement les performances de ce type de capteur en particulier la sensibilité ainsi que la limite de détection. De nos jours, les nouvelles technologies sont un support indispensable pour l'évolution de la science. En cela, l'amélioration de ce type de capteur ne peut avoir qu'un impact majeur sur son exploitation dans des domaines d'applications exigeant des dispositifs miniaturisés et des mesures quantitatives en temps réel, en particulier pour la détection des molécules chimiques et/ou biochimiques.

Dans ce manuscrit, nous avons tout d'abord fait quelques rappels théoriques sur les plasmons de surface ainsi que sur leurs principaux domaines d'applications. Nous avons ainsi montré l'importance des capteurs basés sur le phénomène de résonance des plasmons de surface avec une configuration fibre optique pour la détection des molécules chimiques et biochimiques en temps réel.

Afin d'identifier et d'étudier les paramètres caractéristiques de la zone sensible du capteur lesquels sont fortement liés aux performances de celui ci, nous avons développé un modèle numérique permettant la modélisation de la réponse du capteur SPR à fibre optique. La particularité du code développé est sa capacité de prendre en considération le calcul de la réflectance de la lumière dans une fibre optique, à l'interface entre la silice et une série de couches minces de natures très différentes (métal, couche organique (ligand) et milieu à sonder (analyte)). Nous avons tout d'abord effectué des calculs dans le cadre de l'approximation de *Kretschmann* mais finalement notre choix s'est porté sur l'implémentation des matrices dites de transfert pour un système multicouche. Les résultats obtenus étant encourageants nous avons alors validé notre modèle à l'aide de résultats expérimentaux obtenus dans des conditions de fonctionnement réalistes. Pour ce faire, il a été nécessaire de préparer des capteurs à fibre optique dans notre laboratoire. Nous avons ainsi utilisé ces capteurs pour mener des expérimentations à des fins d'analyse et pour évaluer la réponse mesurée par ces capteurs en fonction de différentes solutions tests.

Suite à cette étape, une étude comparative entre les réponses expérimentales et numériques a été réalisée. Cette étude nous a permis de mettre en évidence des divergences entre les réponses expérimentales et numériques, en particulier en termes de position et de largeur à mi-hauteur des pics de résonance. Nous avons identifié deux

approximations pouvant être à l'origine de ces écarts : i) la permittivité diélectrique complexe de l'or, utilisée couramment dans la littérature néglige les contributions inter-bandes (transitions hybrides) d'une part, et d'autre part, cette permittivité est établie à partir de mesures réalisées sur des échantillons massifs et non en couches minces (ajustement des données expérimentales par la fonction de Drude), ii) la considération de surface infiniment lisse où la rugosité de la surface n'est pas prise en compte.

Pour améliorer notre modélisation, la permittivité diélectrique et la rugosité des couches minces d'or ont été étudiées expérimentalement. En particulier, nous avons effectué des mesures systématiques d'ellipsométrie de couches minces d'or comprises entre 20 et 100 nm. Ces mesures nous ont permis de déterminer la permittivité des couches d'or réalisées. Les mesures d'ellipsométrie ont été couplées à des mesures d'épaisseur par profilométrie et par microscopie de force atomique (*AFM*). De plus, à l'aide des mesures topographiques obtenues par *AFM*, nous avons caractérisé la rugosité des couches métalliques, par traitement statistique et par transformée de Fourier.

Après avoir obtenu expérimentalement ces paramètres, nous les avons implémentés dans notre modèle numérique. Les simulations effectuées ont alors montré un bon accord entre les réponses calculées et les réponses expérimentales, tant au niveau de la position des pics de résonance qu'au niveau de la forme et de la largeur à mi-hauteur de ces mêmes pics. Il est donc apparu clairement que la fonction diélectrique et la rugosité de la couche métallique déposée sont des éléments importants qu'il est indispensable de prendre en compte pour les prévisions de fonctionnement d'un capteur, de même que l'épaisseur de cette couche (seul paramètre ajustable dans les simulations numériques).

Après avoir validé le modèle numérique, nous avons cherché à définir les conditions géométriques idéales pour un fonctionnement optimal de nos capteurs. Nous avons réalisé des études paramétriques numériques et ainsi prévu l'influence des paramètres physiques sur la réponse de ces capteurs. Nous avons pu proposer les conditions géométriques suivantes :

1. Une épaisseur d'une cinquantaine de nanomètre ;
2. Une longueur minimum de la zone sensible de l'ordre de 20 mm ;
3. Une fibre optique d'ouverture numérique inférieure ou égale à 0,22 ;
4. Un diamètre du cœur d'au moins 300 μm .

Pour une fibre capteur réalisée suivant ces conditions, nous avons déterminé des sensibilités $S_{\lambda n} = (\delta \lambda_{\text{res}} / \delta n_s)$ à partir des données expérimentales, comprises entre $1,6 \times 10^3$ et 3×10^3 nm / RIU pour une gamme d'indices compris entre 1,33 et 1,40 RIU. C'est valeurs sont en bon accord avec celles extraites des courbes simulées. Pour une longueur d'onde de travail de 582 nm, nous avons aussi calculé une sensibilité $S_{Tn} = (\delta T / \delta n_s)_\lambda$ voisine de $17,8 \text{ RIU}^{-1}$ pour des indices compris entre 1,33 et 1,38 RIU.

À ce stade du travail, nous avons réalisé et caractérisé un capteur présentant une sensibilité acceptable, et il nous restait à évaluer sa précision au sens de la limite de

détection. Cette limite de détection est probablement le paramètre le plus important pour un capteur, et il dépend non seulement du transducteur lui-même (zone sensible) mais aussi et surtout de l'équipement disponible pour mesurer l'information transmise par la fibre (résolution du spectromètre, sensibilité du détecteur,...). Il n'est donc pas étonnant de trouver dans la littérature une grande dispersion de résultats, selon les moyens mis en œuvre pour analyser le signal à mesurer. Néanmoins, il est bien reconnu dans la littérature que plus la bande de plasmons est étroite plus il est raisonnable d'espérer une bonne précision de la mesure indépendamment de la chaîne d'acquisition. Nous avons alors évalué notre capteur sur la base d'un critère qui tient compte de la largeur du pic de résonance. Ce critère est couramment défini sous le terme de rapport « signal / bruit » (*SNR*). Les valeurs du *SNR* ont alors été calculées et comparées à celles obtenues avec la configuration traditionnelle de *Kretschmann-Raether* (prisme) ou celles obtenues avec une fibre métallisée avec une couche mince d'argent ou une bicouche Argent/or. Ces valeurs nous ont permis de confirmer que les limites de détection pour un capteur à fibre optique sont plus faibles que celles calculées sur des dispositifs SPR couplés par prisme. Il apparaît donc que, malgré notre optimisation de la configuration à fibre optique et les bonnes sensibilités mesurées, nous ne pouvons espérer atteindre d'aussi bonnes limites de détection que celles atteintes avec une configuration à prisme. Néanmoins, l'utilisation d'un capteur SPR avec une configuration fibre optique restera une solution incontournable pour des mesures *in situ* nécessitant des systèmes déportés et miniaturisés et dans des environnements hostiles.

La dernière étape de notre travail a été consacrée à l'étude de la réponse d'un capteur SPR à fibre optique fonctionnant dans un écoulement laminaire, et ceci en vue de l'étude des cinétiques d'adsorption et de désorption de molécules cibles à la surface de la zone sensible. Nous avons alors développé une cellule microfluidique adaptée à nos capteurs FO-SPR. Parallèlement à la mise en place expérimentale du système, nous avons procédé à l'implémentation dans notre modèle numérique des paramètres cinétiques issus de données expérimentales. En plus des effets d'adsorption et de dissociation des molécules à l'interface analyte-ligand, il nous a fallu tenir compte de la vitesse d'écoulement de l'analyte et de la diffusion des molécules cibles de la solution vers la surface sensible. Pour traiter ce problème multiphysique dans une configuration complexe, nous avons été amenés à coupler nos calculs analytiques développés pour l'étude des effets optiques, à une modélisation par la méthode dite « éléments finis ». Le comportement du capteur a ainsi pu être modélisé en tenant compte de plusieurs couplages :

- ♦ Modélisation de l'écoulement de l'analyte dans la cellule en régime laminaire entraînant un apport régulier de molécules cibles (écoulement et convection forcée)
- ♦ Modélisation du déplacement de matière par diffusion lié aux variations de concentration de l'analyte à la surface du capteur (Loi de Fick)
- ♦ Modélisation des réactions de surface entre l'analyte et les ligands (Modèle de *Langmuir*)

- ♦ Calcul de la réponse optique du capteur en fonction du temps et des différents paramètres influençant la cinétique de réaction (transport de masse et réactivité chimique).

Ce travail expérimental et théorique a donné des signes très prometteurs sur la capacité du capteur SPR à fibre optique à analyser les cinétiques de réactions et effectuer des analyses biologiques. Nous pouvons d'ores et déjà proposer certaines pistes pour le développement futur.

La réalisation de nos travaux, nous a permis de tirer quelques observations pertinentes à partir des difficultés que nous avons rencontrées. Une des réflexions concerne l'amélioration des techniques de dépôt et l'emploi d'instruments d'évaporation équipés avec une balance à quartz et un programmeur (courant, temps). Celle-ci s'avère être un facteur essentiel pour bien contrôler in situ l'épaisseur et la quantité de dépôt et bénéficier d'un gain de temps pour reproduire des fibres bien fonctionnelles. En effet, nous avons pu constater combien une conception manuelle nécessite un travail minutieux et exige un degré de vigilance important, principalement pour dénuder la zone sensible et faire entrer la fibre dans la microcellule de 1 mm d'ouverture.

A l'issue de ce travail de recherche, il nous semble que tous les aspects physiques ont été bien pris en compte. Pour élargir ce sujet, il serait intéressant de se pencher sur la fonctionnalisation de ce capteur afin de le tester au sein d'un environnement réel. Plus spécifiquement, nous pourrions aborder la fonctionnalisation des surfaces métallisées avec des éléments de reconnaissance (ligand), protéine par exemple. Ce développement permettrait d'élaborer des études cinétiques et quantitatives sur les interactions des biomolécules ou d'autres espèces d'intérêt biologiques. Cette perspective de travail est aussi une ouverture de collaboration avec des biologistes ou des biochimistes, afin de mener à bien ces applications expérimentales de biodétection. Il reste encore à la science, dans les prochaines années, à réaliser de beaux défis.

Annexe

Relation de dispersion des Plasmons de surface : détails de calcul

Nous présentons dans cette annexe un calcul détaillé, basé sur les équations de Maxwell pour démontrer la relation de dispersion de plasmon de surface ainsi montrer pourquoi une onde incidente de polarisation $\rightarrow s$ (TE) ne peut pas produire une excitation de plasmon de surface à l' interface métal/diélectrique.

Les équations de Maxwell dans un milieu j non magnétique ($\vec{B} = \mu_0 \vec{H}$) :

$$\begin{cases} \nabla \cdot \vec{E} = 0 & \nabla \cdot \vec{H} = 0 \\ \nabla \times \vec{E} = -\mu_0 \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} & \nabla \times \vec{H} = -\varepsilon_0 \varepsilon_j \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \end{cases} \quad (1)$$

où \vec{E} représente le vecteur champ électrique (V/m), \vec{B} l'induction magnétique (Tesla), et \vec{H} le champ magnétique (A/m²).

La combinaison de ces équations, nous permet de déduire l'équation de la propagation du champ magnétique dans un milieu non magnétique :

$$\nabla^2 \cdot \vec{H} - \frac{\varepsilon_j}{c^2} \frac{\partial^2 H}{\partial t^2} = 0 \quad (2)$$

avec $c = (\mu_0 \varepsilon_0)^{-1/2}$ et ε_j est la permittivité de milieu j .

[Permittivité de vide $\varepsilon_0 = \frac{1}{36\pi \cdot 10^9} = 8,84 \cdot 10^{-12} \text{ F/m}$]

Dans le cas d'une onde plane, les champs magnétiques et électriques peuvent s'écrire sous la forme suivante :

$$\begin{cases} \vec{H} = \vec{H}^0 \cdot \exp[+i(k_{jx}x + k_{jz}z - \omega t)] \\ \vec{E} = \vec{E}^0 \cdot \exp[+i(k_{jx}x + k_{jz}z - \omega t)] \end{cases} \quad (3)$$

Ces champs obéissent aux équations de Maxwell (1), ce qui nous donne :

$$\begin{cases} k_{jx}E_x + k_{jz}E_z = 0 & k_{jx}H_x + k_{jz}H_z = 0 \\ -k_{jz}E_z = \mu_0\omega H_x & k_{jz}H_y = \varepsilon_0\varepsilon_j\omega E_x \\ k_{jz}E_x - k_{jx}E_z = \mu_0\omega H_y & k_{jx}H_z - k_{jz}H_x = \varepsilon_0\varepsilon_j\omega E_x \\ k_{jx}E_y = \mu_0\omega H_y & k_{jx}H_y = -\varepsilon_0\varepsilon_j\omega E_z \end{cases} \quad (4)$$

Ainsi, l'équation de propagation (2) devient :

$$k_x^2 + K_z^2 - \frac{\varepsilon_j \omega^2}{c^2} = 0 \quad (5)$$

Nous considérons maintenant une onde évanescente, qui se propage le long d'une interface entre un métal, de constante diélectrique complexe ($\tilde{\varepsilon}_m$), et un milieu diélectrique de constante relative positive ($\varepsilon_s > 0$). Cette interface est présentée sur la figure suivante :

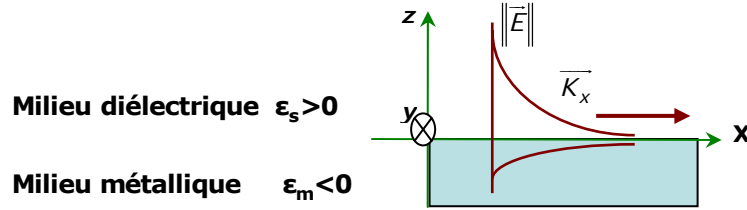


Figure I : décroissance de l'onde de surface à l'interface métal/diélectrique selon l'axe z.

La figure I montre que l'onde se propage suivant l'axe des x, la composante longitudinale (K_x) de son vecteur d'onde est un réel positif, et elle est évanescente et décroît exponentiellement selon l'axe des z donc K_z est imaginaire pur ($k_z = ik'_z$). De plus, dans le milieu diélectrique ($z > 0$) k'_z est positif par contre dans le métal ($z < 0$) k'_z est négatif.

Les champs magnétiques et électriques de cette onde dans les deux milieux sont décrits par :

Pour $z < 0$ (dans le métal):

$$\begin{aligned} \vec{H}_m &= \vec{H}_m^0 \cdot \exp[+i(k_{mx}x - k_{mz}z - \omega t)] \\ \vec{E}_m &= \vec{E}_m^0 \cdot \exp[+i(k_{mx}x - k_{mz}z - \omega t)] \end{aligned} \quad (6)$$

Pour $z > 0$ (dans le diélectrique):

$$\begin{aligned} \vec{H}_s &= \vec{H}_s^0 \cdot \exp[+i(k_{sx}x + k_{sz}z - \omega t)] \\ \vec{E}_s &= \vec{E}_s^0 \cdot \exp[+i(k_{sx}x + k_{sz}z - \omega t)] \end{aligned} \quad (7)$$

A l'interface métal/diélectrique, d'après les équations de Maxwell, il y a une continuité des composantes tangentielles des champs, d'où les relations :

$$\begin{cases} E_{mx}^0 \cdot \exp[i(k_{mx}x - \omega t)] = E_{sx}^0 \cdot \exp[i(k_{sx}x - \omega t)] \\ E_{my}^0 \cdot \exp[i(k_{mx}x - \omega t)] = E_{sy}^0 \cdot \exp[i(k_{sx}x - \omega t)] \\ H_{mx}^0 \cdot \exp[i(k_{mx}x - \omega t)] = H_{sx}^0 \cdot \exp[i(k_{sx}x - \omega t)] \\ H_{my}^0 \cdot \exp[i(k_{mx}x - \omega t)] = H_{sy}^0 \cdot \exp[i(k_{sx}x - \omega t)] \end{cases} \quad (8)$$

Ces conditions à l'interface nous donnent les relations suivantes :

$$\begin{cases} E_{mx}^0 = E_{sx}^0 = E_x & E_{my}^0 = E_{sy}^0 = E_y \\ H_{mx}^0 = H_{sx}^0 = H_x & H_{my}^0 = H_{sy}^0 = H_y \\ k_{mx} = k_{sx} = k_x \end{cases} \quad (9)$$

En associant l'équation (4) avec l'équation (9), nous obtenons :

$$\begin{cases} K_{mz}E_{mz}^0 = K_{sz}E_{sz}^0 = -k_xE_x^0 & K_{mz}H_{mz}^0 = K_{sz}H_{sz}^0 = -k_xH_x^0 \\ K_{mz}E_y^0 = K_{sz}E_y^0 = -\mu_0\omega H_x^0 & (K_{mz}/\tilde{\epsilon}_m)H_y^0 = (K_{sz}/\epsilon_s)H_y^0 = \epsilon_0\omega E_x^0 \\ k_{mz}E_x^0 - K_xE_{mz}^0 = k_{sz}E_x^0 - K_xE_{sz}^0 = \mu_0\omega H_y^0 & (k_xH_{mz}^0 - K_{mz}H_x^0)/\tilde{\epsilon}_m = (k_xH_{sz}^0 - K_{sz}H_x^0)/\epsilon_s = \epsilon_0\omega E_y^0 \\ H_{mz}^0 = H_{sz}^0 = (k_x/\mu_0\omega)E_y^0 & \tilde{\epsilon}_mE_{mz}^0 = \epsilon_sE_{sz}^0 = -(K_x/\epsilon_0\omega)H_y^0 \end{cases} \quad (10)$$

Dans un premier temps, nous supposons que $E_y^0 \neq 0$, alors nous trouvons les relations suivantes à partir de deux premières lignes de l'équation (10) :

$$\begin{cases} k_z = k_{mz} = k_{sz} = -\frac{\mu_0\omega H_x^0}{E_y^0} \\ E_z^0 = E_{mz}^0 = E_{sz}^0 = -\frac{k_x}{k_z}E_x^0 \\ H_z^0 = H_{mz}^0 = H_{sz}^0 = -\frac{k_x}{k_z}H_x^0 \\ H_y^0 = E_x^0 = 0 \end{cases} \quad (11)$$

La relation de 3eme ligne de l'équation (10) dépend aussi de E_y^0 , elle devient sous la forme suivante :

$$(k_xH_z^0 - k_zH_x^0)/\tilde{\epsilon}_m = (k_xH_z^0 - k_zH_x^0)/\epsilon_s = \epsilon_0\omega E_y^0 \quad (12)$$

Comme $\tilde{\epsilon}_m \neq \epsilon_s$ et $E_y^0 \neq 0$, Cette relation ne possède pas une solution et n'a pas un sens physique, par conséquent, la propagation d'une onde de surface nécessite que E_y^0 soit nul. Les plasmons de surface ne peuvent pas être excités par une polarisation -s (TE). **Ceci implique que seule une onde de polarisation-P peut générer des ondes évanescentes à l'interface métal/diélectrique.**

Par contre, si nous supposons $E_y^0 = 0$. Les relations (10) deviennent :

$$\left\{ \begin{array}{ll} k_{mz}E_{mz}^0 = k_{sz}E_{sz}^0 = -k_xE_x^0 & 0=0=0 \\ H_x^0 = 0 & (k_{mz}/\tilde{\epsilon}_m)H_y^0 = (k_{sz}/\epsilon_s)H_y^0 = \epsilon_0\omega E_x^0 \\ k_{mz}E_x^0 - k_xE_{mz}^0 = k_{sz}E_x^0 - k_xE_{sz}^0 = \mu_0\omega H_y^0 & 0=0=0 \\ H_{mz}^0 = H_{sz}^0 = 0 & \tilde{\epsilon}_mE_{mz}^0 = \epsilon_sE_{sz}^0 = -(k_x/\epsilon_0\omega)H_y^0 \end{array} \right. \quad (13)$$

Ce qui nous donne l'équation caractéristique de Plasmon de surface :

$$\frac{k_{mz}}{\tilde{\epsilon}_m} = \frac{k_{sz}}{\epsilon_s} \quad (14)$$

Sachant que les composantes normales des vecteurs d'onde k_{mz} et k_{sz} sont imaginaires pures et que de signes opposés, cela signifie que les constantes diélectriques de deux milieux doivent aussi être de signe opposé. **Cela montre que les plasmons de surface ne peuvent pas être excités qu'à l'interface d'un métal et un diélectrique.**

À partir l'équation (5) et les conditions de continuité à l'interface (équation 9), Nous pouvons calculer la composante longitudinale k_x de vecteur d'onde de l'onde à la surface :

$$\left\{ \begin{array}{l} k_x^2 = \tilde{\epsilon}_m \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 - (k_{mz})^2 \\ k_x^2 = \epsilon_s \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 - (k_{sz})^2 \end{array} \right. \quad (15)$$

Alors, cette équation avec la relation (14), nous donne la valeur de K_{sp} :

$$K_x^{sp} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\tilde{\epsilon}_m \epsilon_s}{\tilde{\epsilon}_m + \epsilon_s}} \quad (16)$$

Modélisation, Réalisation et Caractérisation d'un Capteur Plasmonique à fibre optique : Effets de la rugosité, des réactions de surface et de la cinétique dans un système microfluidique

Résumé : Actuellement une forte demande existe pour des dispositifs de détection chimique et biochimique en temps réel, miniatures, automatisés, bon marchés, et tout particulièrement pour l'étude des interactions biomoléculaires. Les capteurs à fibre optique basés sur la résonance des plasmons de surface (FO-SPR) peuvent répondre à cette attente sous réserve que leur fiabilité soit améliorée. En effet, pour rendre ces capteurs performants et compétitifs, il est nécessaire d'améliorer leur sensibilité et leur limite de détection. L'objectif de notre travail a consisté à optimiser la performance du capteur à fibre optique basé sur la résonance des plasmons de surface. Pour atteindre cet objectif, nous avons réalisé et étudié d'une part des fibres capteurs réalisées au laboratoire, et d'autre part, nous avons développé un modèle numérique qui nous a permis de déterminer les valeurs optimales des paramètres géométriques et physiques ajustables du capteur. Ainsi, des caractérisations de la surface métallique ont été réalisées afin d'en déterminer la rugosité et les permittivités diélectriques complexes puis d'en étudier l'influence sur la réponse du capteur FO-SPR. Finalement, le capteur a été utilisé dans une cellule microfluidique ce qui nous a permis de suivre en temps réel l'évolution de la réponse SPR en fonction de la cinétique des réactions de surface. L'implémentation de notre modèle numérique avec des paramètres cinétiques issus des mesures expérimentales met en évidence la capacité du capteur SPR à fibre optique à répondre aux attentes dans le domaine de la détection biochimique.

Modelling, Realization and Characterization of Optical fiber Plasmonic Sensor: Effects of roughness, surface reactions and kinetics in microfluidic systems.

In the last decade, the surface plasmon resonance (SPR) has become a very sensitive technique for real-time detection in many application areas: chemistry, environmental studies, biological systems, etc. Considering the optic-fiber concept and the important needs for analyzing biomolecular reactions through automated and miniaturized components, optical fiber sensors based on the SPR technique are becoming the first choice in the field of sensing of different chemical and biochemical applications. However, such sensor does not provide yet reasonably high value of performance for an efficient detection fulfilling those needs. Therefore, an improvement of the values of performance parameters, like sensitivity and detection limit, is required. In the present work, the effect of key design factors on the response of the sensor is studied. To be done, we first manufactured optic-fiber sensor for conducting experiments and evaluating sensor's responses in particular. We also developed a tool to perform numerical response curves in conjunction with the experimental results to set up sensor's suitable framework. Furthermore, experimental characterizations of the deposited metallic layer have been investigated to evaluate the effect of the roughness and other parameters (dielectric constant, thickness...) of the metallic layer on sensor's responses. By comparing the experimental results with the simulated curves, a study is carried out in order to validate our numerical tool. On the other hand, the valid tool is then used to define the optimal geometry of a reliable sensor using numerical parametric simulation. Finally, microfluidic system associated with optic-fiber sensor based on SPR is accomplished for monitoring in real-time the variation of sensor's responses at each kinetic reaction occurring at the surface. Thereby, the introduction of kinetic parameters produced by experimental measurement into our numerical model enables us to demonstrate the potential of optic-fiber sensor based on SPR for biological analysis purposes

Mots-clés : SPR, plasmon de surface, fibre optique, capteur, rugosité, réaction de surface, microfluidique.

Discipline : physique de Solide